

ZÜRCHER HOCHSCHULE FÜR ANGEWANDTE WISSENSCHAFTEN  
DEPARTEMENT LIFE SCIENCES UND FACILITY MANAGEMENT  
INSTITUT UNR



## **Laborversuche zur Identifikation einer optimalen Substratmischung zur vorgeschalteten, anaeroben Hydrolyse im Biogasprozess**

Bachelorarbeit  
Herbstsemester 2019

**von**  
**Florian Sutter**

Bachelorstudiengang 2016  
Studienrichtung Umweltingenieurwesen  
Abgabedatum: 09.01.2020

Korrektor 1:

Florian Rüsch  
ZHAW LSFM Fachstelle Umweltbiotechnologie  
Einsiedlerstrasse 29  
8840 Wädenswil  
Tel: 058 934 56 62  
E-Mail: [ruec@zhaw.ch](mailto:ruec@zhaw.ch)

Korrektor 1:

Alexander Treichler  
ZHAW LSFM Fachstelle Umweltbiotechnologie  
Einsiedlerstrasse 29  
8840 Wädenswil  
Tel: 058 934 56 27  
E-Mail: [trec@zhaw.ch](mailto:trec@zhaw.ch)

## **Impressum**

### **Organisation**

Institut für Umwelt und natürliche Ressourcen

### **Keywords**

Hydrolyse, anaerobe Vergärung, Fettschlamm, Fette, Fettsäuren, Hemmung, Restmethanpotential

### **Zitiervorschlag**

Sutter, F. (2020). Laborversuche zur Identifikation einer optimalen Substratmischung zur vorgeschalteten, anaeroben Hydrolyse im Biogasprozess. Bachelorarbeit. Life Sciences und Facility Management, Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften (ZHAW), Wädenswil.

### **Titelbild**

Restmethanpotential Versuchsaufbau mit dem AMPTS II der Firma Bioprocess control (Schweden).  
Bild: Sutter, 2019

## Zusammenfassung

Die WIGAKO AG in Süderen (BE) betreibt eine landwirtschaftliche Biogasanlage mit vielen verschiedenen gewerblich-industriellen Co-Substraten, wodurch je nach Substratmix die Biogasausbeute stark schwankt. Um die Schwankungen auszugleichen und die substratspezifische Biogasausbeute zu erhöhen, stellt die WIGAKO auf eine zweistufige Vergärung um und baut zusätzlich zwei neue vorgeschaltete Hydrolysentanks. Für die Inbetriebnahme existiert in der Praxis und in der Literatur kein anwendbares «Patentrezept». In dieser Arbeit werden deshalb verschiedene Laborversuche durchgeführt, mit dem Ziel, erste Anhaltspunkte zur Inbetriebnahme und zur Stabilisierung des Biogasprozesses liefern zu können. In der Analyse der Massenbilanz der bestehenden Anlage fiel auf, dass ein Fettschlamm, der aus der industriellen Öl- und Fettverarbeitung stammt, für weit über 50% der jährlichen Methanproduktion verantwortlich ist. Der Fokus der Untersuchungen lag deshalb auf der Handhabung dieses Substrats. Dazu wurde eine semikontinuierliche Hydrolyse, eine Batch-Hydrolyse und ein Restmethanpotential (BMP) durchgeführt. Ziel der Hydrolysenversuche war es, verschiedene Betriebsparameter wie Temperatur, pH-Wert und Co-Vergärung zu untersuchen. Beim BMP-Versuch stand der Einfluss des Inokula respektive der Bakteriengemeinschaft auf den Fettabbau sowie die Hemmkonzentrationen vom Fettschlamm als stark lipidhaltiges Substrat im Vordergrund.

Die Auswertung hat ergeben, dass je nach Inokulum bei einer Fettschlammkonzentration von 8.9 g/l bereits Hemmungen auftreten und der Abbau verzögert verläuft. Eine tiefere Konzentration von 4.5 g/l erhöht die Abbaurate und das spezifische Methanpotential und eine höhere Konzentration von 18 g/l hemmt und verzögert den Abbau bereits stark. Im Weiteren hat sich gezeigt, dass die Faulschlambakteriengemeinschaft einer ARA höhere Abbauraten und höhere spezifische Methanpotentiale aus dem Fettschlamm herausholt, als die Inokula einer landwirtschaftlichen und einer gewerblich-industriellen Biogasanlage. Eine höhere Temperatur von 42°C hat gegenüber 37°C ebenfalls einen positiven Effekt auf die Abbaurate und das Methanpotentials des Fettschlammes.

In der Hydrolyse der WIGAKO sollte deshalb auf die organische Belastungsrate des Fettschlammkonzentrationen geachtet werden, damit die Konzentrationen nicht zu hoch ausfallen und die mikrobiellen Aktivitäten nicht gehemmt werden. Eine Untersuchung, wie das eigene Fermentermaterial auf verschiedene Fettschlammkonzentrationen reagiert, könnte einen Hinweis liefern, ob allenfalls eine Animpfung einer zusätzlichen Biologie in der Hydrolyse sinnvoll wäre.

## Abstract

WIGAKO AG in Süderen (BE) has an agricultural biogas plant with many different commercial and industrial co-substrates. Depending on the substrate mix, the biogas yield strongly fluctuates. As a solution, WIGAKO converts to a two-stage digestion and builds two hydrolysis tanks. It is hoped that this will also increase the substrate-specific biogas yield. In practice and in the literature, there is no applicable solution for the initiation. In this thesis, therefore, various laboratory tests are carried out with the aim of providing initial indications for the start-up and the stabilisation of the biogas process. In the analysis of the mass balance of the current plant it was found that a grease sludge is responsible for over 50% of the annual methane production. The grease sludge is produced by an industrial oil and fat processing plant. The focus of the analysis was therefore on the handling of this substrate. For this, a semi-continuous hydrolysis, a batch hydrolysis and a residual methane potential (BMP) were performed. The aim of the hydrolysis experiments was to study different operating parameters (temperature, pH and co-digestion). In the BMP experiment, the influence of a bacterial community on fat degradation and different inhibition concentrations of the grease sludge (material with a high lipid content) was investigated.

The evaluation showed the following: a grease sludge concentration of 8.9 g/l already inhibits and delays degradation, 4.5 g/l increases the degradation rate and the specific methane potential and 18 g/l already strongly inhibits and delays degradation. In addition, the sewage sludge of a waste water treatment plant is better adapted for the degradation of grease sludge than the inocula of an agricultural and a commercial-industrial biogas plant. A higher temperature of 42°C compared to 37°C has also a positive effect on the degradation rate and the methane potential of the grease sludge.

In the hydrolysis of the WIGAKO, attention should be given to the organic load rate of the grease sludge in order to avoid a too high concentration. An examination with the own fermenter material could give an indication whether an incubation of an additional biology in the hydrolysis would be useful.

# Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung.....	8
2	Literaturauswertung .....	11
2.1	Fettschlamm als Substrat .....	11
2.2	Fette und Fettsäuren.....	12
2.3	Fette und Fettsäuren in der anaeroben Vergärung .....	13
2.3.1	Hemmungen .....	14
2.3.2	Co-Vergärung .....	17
3	Material und Methoden .....	20
3.1	Substrate .....	20
3.2	Versuch 1 (anaerobe semikontinuierliche Hydrolyse).....	21
3.3	Versuch 2 (anaerobe Batch-Hydrolyse) .....	23
3.4	Versuch 3 (BMP-Matrix).....	24
3.5	Restgaspotential der bestehenden Anlagenkonfiguration .....	28
3.6	Fettschlamm .....	28
3.6.1	Konzentrationen.....	29
3.6.2	Chemische Hydrolyse .....	30
3.7	Analysen.....	30
3.7.1	FOS/TAC Messung.....	30
3.7.2	pH Messung .....	31
3.7.3	TS / oTS .....	31
3.7.4	Gaschromatographie (GC) / Massenspektrometer (MS) .....	32
3.7.5	Fettextraktion.....	34
4	Resultate .....	36
4.1	Substrate .....	36
4.2	Versuch 1 (anaerobe semikontinuierliche Hydrolyse).....	36

4.2.1	GC/MS.....	39
4.3	Versuch 2 (anaerobe Batch-Hydrolyse) .....	46
4.4	Versuch 3 (BMP-Matrix).....	47
4.5	Restgaspotential der bestehenden Anlagenkonfiguration .....	52
5	Diskussion .....	54
6	Schlussfolgerungen und Ausblick .....	61
7	Literaturverzeichnis.....	62
	Abbildungsverzeichnis .....	67
	Tabellenverzeichnis .....	69
	Formelverzeichnis.....	71

## Abkürzungsverzeichnis

### Allgemeine Abkürzungen

AD	anaerobe Vergärung (anaerobic digestion)
FM	Frischmasse
FOG	Fette und Öle (fatt, oil, grease)
LCFA	langkettige Fettsäuren, länger als C12 (long chain fatty acids)
MP	Methanpotential
OLR	organische Belastung [kg oTS/(m <sup>3</sup> *d)] (organic loading rate)
oTS	organische Trockensubstanz
SOP	Standard Operating Procedure (standardisiertes Vorgehen)
TPAD	zweistufige anaerobe Vergärung (two stage anaerobic digestion)
TS	Trockensubstanz
UBIOT	Fachstelle Umweltbiotechnologie
VFA	flüchtige, kurzkettige Fettsäuren (volatile fatty acids)

### Resultate

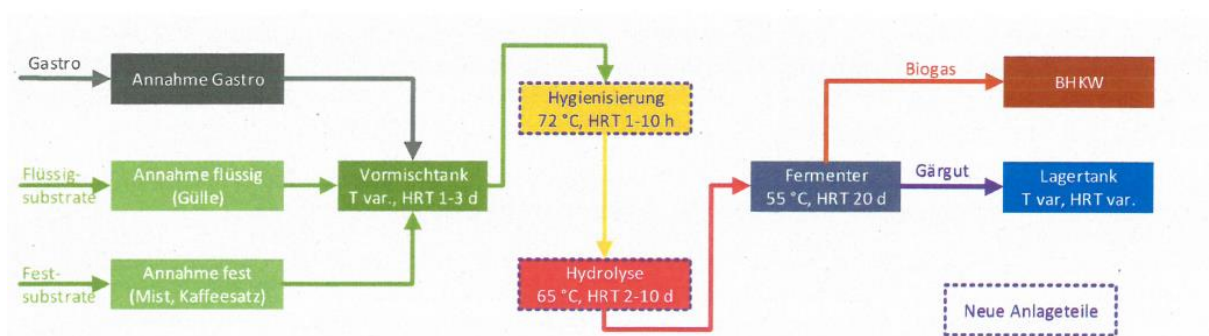
MW	Mittelwert
SD	Standardabweichung

# 1 Einleitung und Fragestellung

Der Endenergieverbrauch der Schweiz betrug im Jahr 2018 nach einem Peak im Jahr 2010 von rund 904'000 TJ noch 830'880 TJ. Erfreulicher aber ist, dass der Anteil der erneuerbaren Energieträger seit 1990 immer weiter zunimmt. Im Jahr 2018 machte der Endenergieverbrauchsanteil der Erneuerbaren mit 193'322 TJ erst knapp 23.3% des gesamten Endenergieverbrauches aus. Die erneuerbare Energieproduktion wird in Zukunft also weiter gefordert sein. (Kaufmann, 2018)

Einen Beitrag zum erneuerbaren Endverbrauch leisten mit 3'000 TJ (ca. 1.6% der Erneuerbaren) auch verschiedenen Biogasanlagen in der Schweiz. Die Biogasanlagen können in verschiedenen Anlagentypen unterteilt werden (Anzahl Anlagen gemäss schweizerischer Statistik der erneuerbaren Energien 2018): Landwirtschaft (111 Anlagen), Gewerbe-Industrie (28), Klärgasanlagen (272) und Industrieabwässer (20). Keine Bedeutung mehr haben Deponiegasanlagen, da die Müllentsorgung auf Deponien kontinuierlich abnimmt. Besonders bei den landwirtschaftlichen und gewerblichen-industriellen Biogasanlagen stieg die Anlagenzahl und die Bruttoenergieproduktion in den letzten Jahren stetig. Wobei auch vermehrt gewerbliche-industrielle Produkte als Co-Substrate in landwirtschaftlichen Anlagen mitvergärt werden. (Kaufmann, 2018)

Eine solche landwirtschaftliche Biogasanlage mit gewerblich-industriellen Co-Substraten betreiben auch die Gebrüder Urs und Klaus Wittwer unter der Firma WIGAKO AG in Süderen (BE). Die Vielzahl an verschiedenen landwirtschaftliche und gewerblich-industriellen Substraten werden in einem Vormischtank gemischt und zum Teil vorher Hygienisiert. Dadurch ändern sich die Bedingungen im Vormischtank wie Substratmix, Lagerzeit und Temperatur immer wieder und die Abbaubedingungen und die Verweilzeit sind in der Vergärung nicht optimal einstellbar/kontrollierbar. Je nach Substratmix schwankt die Biogasausbeute deshalb stark. Jedoch hat man im Betrieb festgestellt, dass sich bei längerer Aufenthaltsdauer und höherer Temperatur im Vormischtank die Biogasausbeute eher stabilisiert. (Huber et al., 2019, unveröffentlicht)



**Abbildung 1: Grundflussbild der Biogasanlage WIGAKO als zweistufige Vergärung nach dem Umbau im Jahr 2018/19 (Huber et al., 2019)**

Diese Erkenntnisse werden in einem aktuellen Umbau der Biogasanlage berücksichtigt. Unter anderem werden der Vormischbehälter und die Hygienisierung erneuert und zusätzlich zwei neue



vorgeschaltete anaerobe Hydrolysenfermenter (je 100 m<sup>3</sup>) in die Anlage integriert (Abbildung 1). Das erlaubt die Hydrolyse unabhängig von den beiden Hauptfermentern (550 m<sup>3</sup> und 150 m<sup>3</sup>) in einem zweistufigen anaeroben Prozess zu betreiben und dadurch die Prozessführung besser auf optimale Bedingungen auszurichten. So sollen grosse Schwankungen in der Biogasausbeute verhindert und die substratspezifische Biogasausbeute erhöht werden. (Huber et al., 2019, unveröffentlicht)

Das Institut für Chemie & Biotechnologie ICBT der ZHAW Wädenswil begleitet diesen Umbau der Biogasanlage der WIGAKO AG mit dem Projekt HYKOM. Das Projekt wird durch das Bundesamt für Energie BFE finanziell unterstützt und demonstriert im technischen Massstab vor Ort die energetisch und mikrobiologisch optimierte Kombination einer Hygienisierung mit einer zweistufigen Vergärung.

Die zweistufige anaerobe Vergärung bedeutet, dass die ersten zwei Schritte der anaeroben Vergärung von den Schritten drei und vier räumlich getrennt werden. So wird die Hydrolyse, meist auch mit der Acidogenese, von der Acetogenese und der Methanogenese getrennt (Abbildung 2) (Krautwald & Baier, 2016). Der Vorteil der zweistufigen anaeroben Vergärung besteht darin, dass sie den unterschiedlichen Eigenschaften der verschiedenen Bakteriengruppen eher gerecht werden kann: So weisen hydrolytische und acidogene Bakterien ein anderes pH-Wert-Optimum (zwischen pH-Wert 5 und 6.5) auf, als methanogene Bakterien (pH 7 bis 7.5) (Kaltschmitt et al., 2009). Oder die Mikroorganismen in der ersten Stufe sind weniger empfindlich gegen viele Chemikalien (z.B. Phenole oder Ammoniak) und können diese in der ersten Stufe sogar abbauen (Montgomery & Bochmann, 2014). Oft findet mit der Trennung der Prozessschritte auch eine Optimierung der Temperatur statt, was in der Literatur als Temperature-Phased Anaerobic Digestion (TPAD) bezeichnet wird. Die Hydrolyse/Acidogenese wird dabei thermophil und die Acetogenese/Methanogenese mesophil betrieben. Allgemein ermöglichen höhere Temperaturen schnellere biochemische Abbauzeiten (Kaltschmitt et al., 2009).

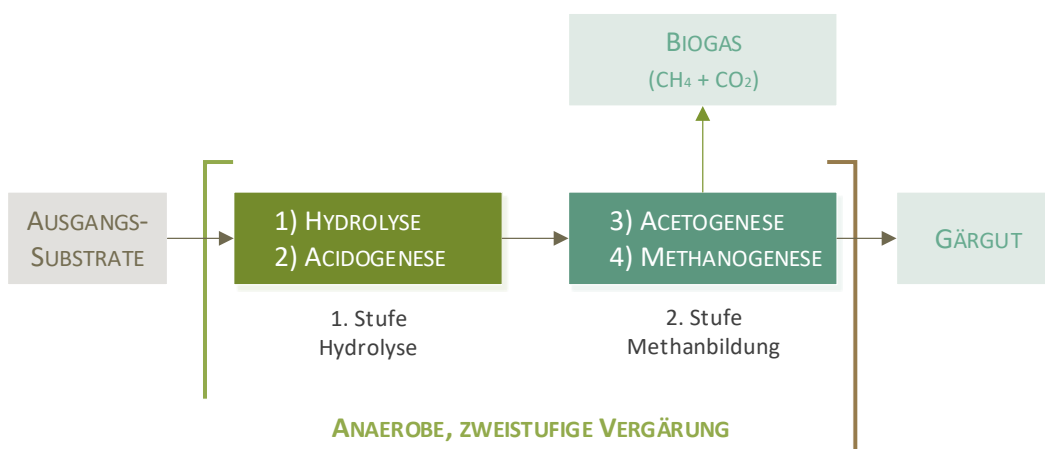


Abbildung 2: Prinzip einer anaeroben, zweistufigen Vergärung im Biogasprozess (Krautwald & Baier, 2016)

In der Literatur sind bezüglich zweistufiger anaerober Vergärung verschiedenste Untersuchungen zu den verschiedensten Betriebsparametern (Temperatur, pH-Wert, Verweilzeit, organische Raumbelastung, Co-Vergärung, Substratkombinationen) zu finden und in der Schweiz arbeiten einzelne landwirtschaftliche oder industrielle Biogasanlagen bereits mit einer vorgeschalteten Hydrolyse. Diese Untersuchungen und bestehenden Anlagen lassen sich jedoch von den Substrateigenschaften und Substratzusammensetzungen nicht mit der Anlage der WIGAKO vergleichen. Es ist deshalb nicht möglich ein vorhandenes «Patentrezept» auf die Inbetriebnahme der Hydrolyse der WIGAKO anzuwenden.

Ziel dieser Bachelorarbeit ist es, als Vorarbeit für das Projekt HYKOM, Vorschläge für die Inbetriebnahme der neuen vorgeschalteten Hydrolyse und zur Erreichung einer konstanteren Biogasausbeute machen zu können. Dieses Ziel soll durch verschiedene Laboruntersuchungen, deren Auswertung und Vergleich mit der Literatur erreicht werden.

In dieser Arbeit können jedoch bei weitem nicht alle möglichen Betriebsparameter auf sämtliche auf der Anlage eingesetzten Substrate bzw. möglichen Substratmischungen untersucht werden. Deshalb erfolgt eine Fokussierung auf das Substrat «Nutriswiss Fettschlamm», dessen relativen Anteil am totalen Methanertrag gemäss Massenbilanz des HYKOM-Projekts weit über 50% ausmacht (Senn et al., 2019, unveröffentlicht). Die Substrate Schweinegülle, Kartoffelpülpe und Kaffeesatz werden als Co-Substrate ebenfalls untersucht. Der Fokus der Arbeit richtet sich dabei nicht ausschliesslich auf die Hydrolyse des Fettschlammes, sondern auch auf seinen Einfluss auf den ganzen Biogasprozess und dessen Stabilisation.

Auf Grund dieser Aufgabenstellung wurden folgende Forschungsfragen ausgeführt:

- A. Ist es möglich, den gesamten im Fettschlamm enthaltenen Fettanteil abzubauen?
- B. Gibt es Co-Substrate (Proteine, Kohlenhydrate), welche den Fettabbau (Lipide) des Nutriswiss-Fettschlammes hemmen oder fördern?
- C. Hat die Temperatur und der pH-Wert einen Einfluss auf den anaeroben Abbau der Lipide?
- D. Hat eine zu hohe Konzentration von Lipiden und/oder Fettsäuren eine hemmende Wirkung auf den anaeroben Abbau?
- E. Welchen Einfluss hat eine adaptierte Mikrobiologie auf den Abbau von Lipiden/Fettsäuren?

## 2 Literaturlauswertung

Der Fokus der Literaturlauswertung ist auf die Eigenschaften, den Abbau, die Hemmungen und die Co-Vergärung von Lipidreichen Substraten gelegt. Allgemeine Parameter zur anaeroben Vergärung, der zweistufigen anaeroben Vergärung oder der Temperature-Phased Anaerobic Digestion (TPAD), also der zweistufigen Vergärung mit optimierter Prozesstemperatur, werden in dieser Auswertung nicht behandelt.

### 2.1 Fettschlamm als Substrat

Fettige und ölige Substrate wurden im Bezug zur anaeroben Vergärung (anaerobic digestion = AD) oft kritisch betrachtet, da sie Leitungen verstopfen oder bei übermässiger Konzentration den AD-Prozess hemmen können. Jedoch enthalten Fette mit 1014 NI CH<sub>4</sub>/kg oTS im Vergleich zu Kohlenhydraten mit 370 NI CH<sub>4</sub>/kg oTS und zu Proteinen mit 740 NI CH<sub>4</sub>/kg oTS ein sehr hohes theoretisches Methanpotential (Harris & McCabe, 2015). Eine andere Quelle gibt mit 850 NI CH<sub>4</sub>/kg oTS für Fette, 395 NI CH<sub>4</sub>/kg oTS für Kohlenhydrate und 497 NI CH<sub>4</sub>/kg oTS für Proteine tiefere Werte an, die Fettwerte sind aber auch hier klar am höchsten (Baserga, 1998).

Die WIGAKO AG erhält ihren Fettschlamm von Nutriswiss AG in Lyss CH. Die Nutriswiss AG ist in der Öl- und Fettverarbeitung tätig und die Produktion umfasst die Fettschmelze, die Fettveredlung, die Fraktionierung, die Hydrierung, die Umesterung, die Rezeptierung und die Kristallisation. Verarbeitet werden pflanzliche Rohstoffe wie Palmöl, Rapsöl, Sonnenblumenöl oder Kakaobutter und tierische Rohstoffe wie Rinderfett, Schweinefett und Fisch. (Nutriswiss, n.d.) Die genaue Zusammensetzung des Fettschlamm ist nicht bekannt, er stammt jedoch aus Abfällen von verschiedenen Produktionsprozessen und besteht darum wahrscheinlich zu einem Grossteil aus Fetten und Ölen.

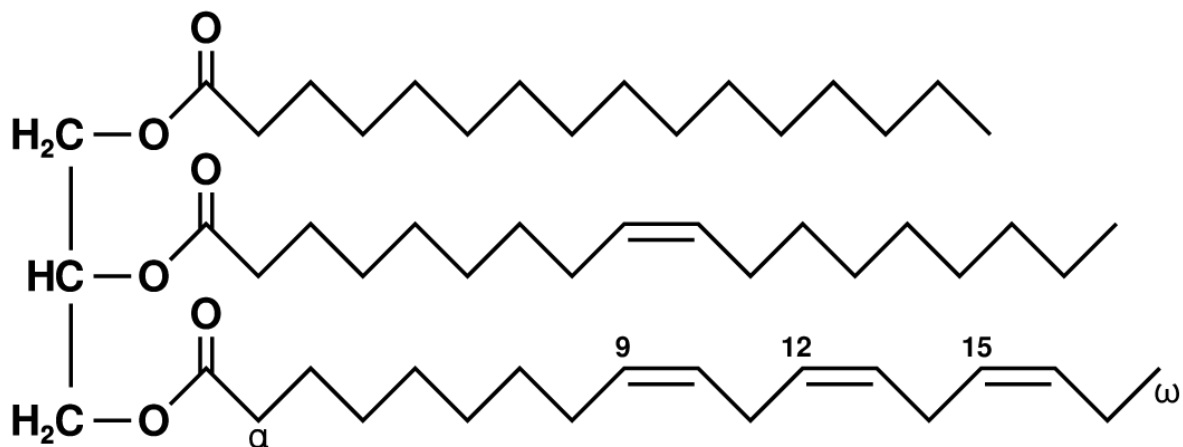
Der Fettschlamm der WIGAKO AG wird in einem auf 35°C beheizten Tank gelagert, damit er flüssig und pumpbar bleibt. Der Fettschlamm wird das ganze Jahr regelmässig stündlich direkt in die Fermenter gepumpt. Bei 975 t im Jahr 2018 ergibt das rund 111 kg/h oder 2671 kg/d und eine organische Belastung nur durch den Fettschlamm von 2.45 kg oTS/(m<sup>3</sup>\*d). (*Probenahme Orte und Handhabung Fettschlamm*, personal communication, January 6, 2020)

Eine Studie von Rojas et al. (2011) untersuchte Fettschlamm als Substrat experimentell und simulativ. Der Fettschlamm setzte sich aus pflanzlichen und tierischen Fetten, die in Fleischereien, Margarinefabriken usw. in den Fettabscheidern gesammelt wurden. Er liegt in flüssiger Konsistenz vor und lässt sich Pumpen. Der TS, oTS und pH-Wert wurden experimentell bestimmt: TS [%] = 13.87, oTS [%TS] = 77.8, pH = 4.5. Ein semikontinuierlicher Labor-Reaktor mit 7 l Inokulum (Rindergülle und Fermentermaterial), einem pH von 7.7 und bei 37° Grad wurde pro ½ Tag 0.15 l Fettschlamm beschickt (Belastungsrate 1.12 kg oTS/(m<sup>3</sup>\*d)). Der pH änderte sich nicht und der Fettschlamm war

jeweils nach 2 Tagen komplett abgebaut. Für die Simulation wurde der Fettschlamm, als Reste von Produktionsprozessen mit langer Lagerung, als sehr leicht abbaubar (60%) und leicht abbaubar (40%) eingestuft, obwohl Fette eigentlich als schwer abbaubar gelten. Die Fraktionierung wurde als 10% Kohlenhydrate, 20% Proteine und 70% Lipide festgelegt. Mit diesen Angaben deckten sich Simulation und Experiment sehr gut. (Rojas et al., 2011)

## 2.2 Fette und Fettsäuren

Natürlich vorkommende Fette sind Gemische von verschiedenen Triglycerid-Molekülen (Fett-Molekülen) und einem kleinen Anteil an freien Fettsäuren. Als Fettsäuren werden Carbonsäuren bezeichnet, die aus der Abspaltung von einem Triglycerid stammen. Ein Triglycerid (systematischer Name: Triacylglycerin) besteht aus einem Glycerin, bei dem alle drei Hydroxy-Gruppen mit einer Fettsäure verestert sind. Einige Triglyceride sind mit drei gleichen Fettsäuren verestert, häufiger jedoch sind verschiedene Fettsäuren. Die am häufigsten vorkommenden Fettsäuren in Fetten sind Stearinsäure (C18), Palmitinsäure (C16), Laurinsäure (C12), Myristinsäure (C14), Ölsäure (C18-1) und Linolsäure (C18-2). Der Unterschied zwischen Stearin-, Öl- und Linolsäure ist die Sättigung. Gesättigte Fettsäuren haben keine Doppelbindungen (Stearinsäure), einfach ungesättigte haben eine Doppelbindung (Ölsäure) und mehrfach ungesättigte haben zwei oder mehr Doppelbindungen (Linolsäure). (Mortimer & Müller, 2010; Stieger, 2007)



**Abbildung 3:** Strichformel eines Triglycerid-Moleküls (Fettmolekül). Linker Teil: Glycerin; rechts oben: Palmitinsäure (C16 gesättigt); rechts mitte: Ölsäure (C18 ungesättigt); rechts unten: Linolensäure (C18, 3-fach ungesättigt) (*Triglyceridabbau – Was Medizinstudenten wissen müssen*, 2015)

Die Art der Fettsäuren beeinflussen die Eigenschaften von Fetten. Je langkettiger und je grösser der Anteil an gesättigten Fettsäuren ist, desto höher liegt der Schmelzbereich. Überhaupt sind ungesättigte Fettsäuren reaktionsfreudiger. Pflanzliche Fette enthalten dabei fast nur Fettsäuren mit einer geraden Anzahl von C-Atomen, tierische Fette hingegen können auch Fettsäuren mit ungeraden C-Atomen enthalten. Gewisse Fettsäuren können auch einfach oder mehrfach verzweigt

sein. Dadurch ergibt sich eine Vielzahl an verschiedenen Zusammensetzungsmöglichkeiten von Fett-Molekülen. Ebenso können Fette aus diversen verschiedenen zusammengesetzten Triglyceriden bestehen. (Mortimer & Müller, 2010; Stieger, 2007)

### 2.3 Fette und Fettsäuren in der anaeroben Vergärung

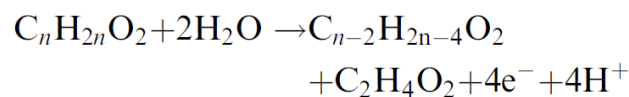
Der Abbau von Lipiden (Fetten) wird in der AD durch hydrolytische Bakterien gewährleistet, die Enzyme (Lipasen) zur biochemischen Spaltung der Esterverbindungen zwischen Glycerin und Fettsäuren freisetzen (Čipinytė et al., 2009; Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe et al., 2016). Die Abbaurate (Zeit) hängt dabei vom physikalischen Zustand der Lipide ab. Feste Lipide sind für die enzymatischen Angriffe mit Lipase weniger gut verfügbar als flüssige (Čipinytė et al., 2009). Ebenfalls einen Einfluss haben die verschiedenen Bakterien und auf den Abbau. Bakterienkulturen können spezialisiert sein und sie können nicht alle Substanzen abbauen. Auf bestimmten LCFA gefundene Bakterien, konnten andere LCFA nicht abbauen (Sousa et al., 2007). Am besten für Fette und Öle sind *Acinetobacter sp.*, *Bacillus sp.* und *Pseudomonas sp.*, die auch Amylase und Protease für den Kohlenhydrat und Protein Abbau produzieren, geeignet (Bhumibhamon et al., 2002). Ein anderer Autor, der 124 verschiedene Bakterienstämme auf ihre Lipidabbaufähigkeit testete, weist *Enterobacter aerogenes* und *Arthrobacter sp.* als die Bakterien mit der höchsten Lipaseaktivitäten und intensivsten Abbauraten aus (Čipinytė et al., 2009).

Uneinig sind sich verschiedenen Autoren, was die Anpassungsfähigkeit von Bakterien an Substrate/Einsatzstoffe betrifft. Bakterien, die mit nicht toxischer (nicht den Abbau hemmenden) Konzentration von langkettigen Fettsäuren (LCFA = Long Chain Fatty Acid) «vorbehandelt» wurden, entwickelten keine grössere Toleranz gegenüber toxischen Konzentrationen (Angelidaki & Ahring, 1992). Lalman & Bagley (2001) hingegen stellten fest, dass bei dauernder Gegenwart von LCFA eine Akklimatisierung stattfindet und die Hemmung reduziert wird (J. A. Lalman & Bagley, 2001). Auch wurde bei aufeinanderfolgenden LCFA-Fütterungsimpulsen beobachtet, wie sich die säurebildenden Aktivitätsraten verbesserten (Palatsi et al., 2010). Bei hohen, aber auch bei tiefen LCFA-Konzentrationen dominieren jeweils die hydrolytischen und methanogenen Bakterienstämme, wogegen die acetogenen Bakterien viel anfälliger auf die Anwesenheit von LCFA sind. Die Vielfalt der Bakterien nimmt bei höheren Lipidkonzentrationen allgemein ab, was zur Folge hat, dass eine weniger grosse Bandbreite an Substanzen abgebaut werden kann (Palatsi et al., 2010; VDI, 2006). Eine Bakterienanalyse von Ma et. al (2015) zeigte ausserdem eine deutlich unterschiedliche Gemeinschaft bei zwei Fermentern mit unterschiedlicher Lipidbelastung. Als Hauptstamm für eine effizienten Abbau von lipidhaltigem Abwasser wurde ebenfalls *Acinetobacter* ausgewiesen (Ma et al., 2015).

Im Allgemeinen werden LCFA, sobald sie mit Hilfe der Lipasen vom Glycerin abgespalten wurden, mit acidogenen Bakterien durch eine  $\beta$ -Oxidation weiter abgebaut, bis sie als kurzkettige

Essigsäuren (C2) vorliegen. Die  $\beta$ -Oxidation läuft dabei mit der Reaktion gemäss Formel 1 ab und in der Abbildung 4 sind  $\beta$ -Oxidation-Reaktionen und frei werdende Energiewerte für verschiedene LCFA zusammengefasst. Stearinsäure wird demnach zuerst zu Palmitinsäure und anschliessend weiter zu Myristinsäure abgebaut. Dies unterstützt die Hypothese, dass gesättigte Fettsäuren direkt abgebaut werden können, auch wenn der Abbau von Öl- und Linolsäure energetisch sinnvoller wäre. Andere Studien haben vorgeschlagen, dass gesättigte Fettsäuren abgebaut werden, indem sie zuerst zu ungesättigten Fettsäuren umgewandelt werden. Auch wenn bei Ölsäure auch Linolsäure als Abbauprodukt festgestellt wurde, ist diese These umstritten, da beim Abbau von gesättigten Fettsäuren auch noch weitere Nebenprodukte gefunden wurden. (J. A. Lalman & Bagley, 2001) Auf die Thermodynamik wird in dieser Arbeit nicht näher Bezug genommen.

**Formel 1:  $\beta$ -Oxidation Reaktion für LCFA (J. A. Lalman & Bagley, 2001)**



Parent	Products	Reactions	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ mol <sup>-1</sup> )
Linoleic acid (C18:2)	Oleic acid	$C_{18}H_{31}O_2 + H_2 \rightarrow C_{18}H_{33}O_2^-$	-78.6
	Palmitoleic acid	$C_{18}H_{31}O_2 + 2H_2O \rightarrow C_{16}H_{29}O_2 + C_2H_3O_2^- + H_2 + H^+$	-28.1
	Palmitic acid	$C_{18}H_{31}O_2 + 2H_2O \rightarrow C_{16}H_{31}O_2 + C_2H_3O_2^- + H^+$	-106.4
Oleic acid (C18:1)	Stearic acid	$C_{18}H_{33}O_2 + H_2 \rightarrow C_{18}H_{35}O_2^-$	-78.6
	Palmitoleic acid	$C_{18}H_{33}O_2 + 2H_2O \rightarrow C_{16}H_{29}O_2 + C_2H_3O_2^- + 2H_2 + H^+$	50.5
	Palmitic acid	$C_{18}H_{33}O_2 + 2H_2O \rightarrow C_{16}H_{31}O_2 + C_2H_3O_2^- + H_2 + H^+$	-27.8
Stearic acid (C18:0)	Palmitic acid	$C_{18}H_{35}O_2 + 2H_2O \rightarrow C_{16}H_{31}O_2 + C_2H_3O_2^- + 2H_2 + H^+$	50.8
Palmitoleic acid (C16:1)	Palmitic acid	$C_{16}H_{29}O_2 + H_2 \rightarrow C_{16}H_{31}O_2^-$	-78.3
	Myristic acid	$C_{16}H_{29}O_2 + 2H_2O \rightarrow C_{14}H_{27}O_2 + C_2H_3O_2^- + H_2 + H^+$	-31.8
Palmitic acid (C16:0)	Myristic acid	$C_{16}H_{31}O_2 + 2H_2O \rightarrow C_{14}H_{27}O_2 + C_2H_3O_2^- + 2H_2 + H^+$	46.5
Myristic acid (C14:0)	Lauric acid (C12:0)	$C_{14}H_{27}O_2 + 2H_2O \rightarrow C_{12}H_{23}O_2 + C_2H_3O_2^- + 2H_2 + H^+$	48.6

<sup>a</sup>Standard free energies at 25°C and activities = 1 except for H<sup>+</sup> activity = 10<sup>-7</sup> (pH = 7). See Lalman (2000) for calculation details.

**Abbildung 4 :  $\beta$ -Oxidation Reaktion und Energiewerte für verschiedene LCFA's (J. A. Lalman & Bagley, 2001)**

### 2.3.1 Hemmungen

Čipinytė et al. (2009) haben in Experimenten mit Sonnenblumenöl festgestellt, dass die Lipaseaktivität der Bakterien zu Beginn stark zunimmt. Mit dem Aufbrauchen des Substrates, dem Freisetzen von LCFA und dem sinkenden pH-Wert (nach 72 h von 8.0 auf 3.8) nimmt sie wieder ab. Andere Quellen geben für die Hydrolyse pH-Wert-Bereiche zwischen 5 bis 8 (Bhumibhamon et al., 2002), 5.5 bis 6.5 (Krishania et al., 2013) oder 5 bis 6.5 (Kaltschmitt et al., 2009) an. Ein zu tiefer pH-Wert scheint die Lipaseaktivität zu hemmen. Ebenfalls eine Hemmung des Abbaus kann eine zu hohe Konzentration von LCFA auslösen, was von allen Autoren zu diesem Thema bestätigt wird (Harris & McCabe, 2015).

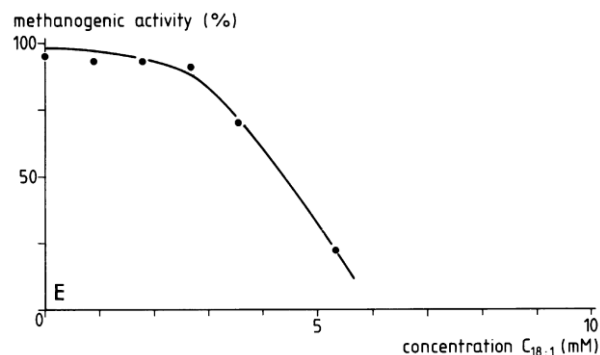
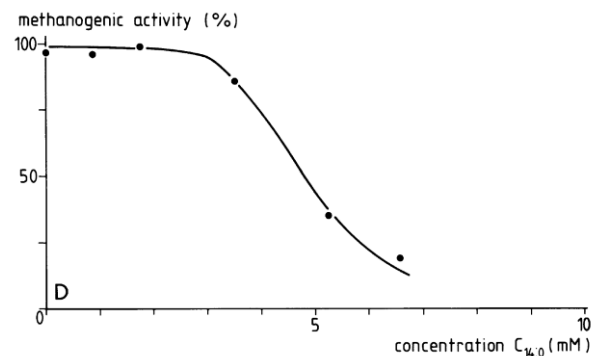
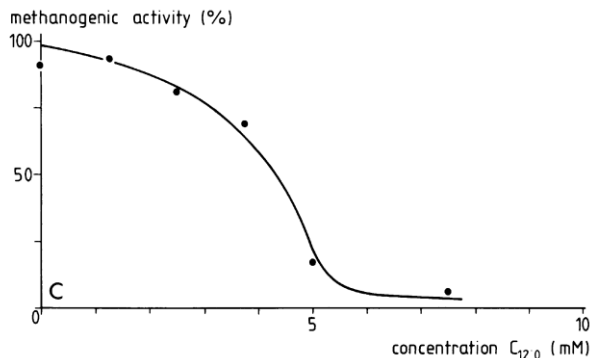
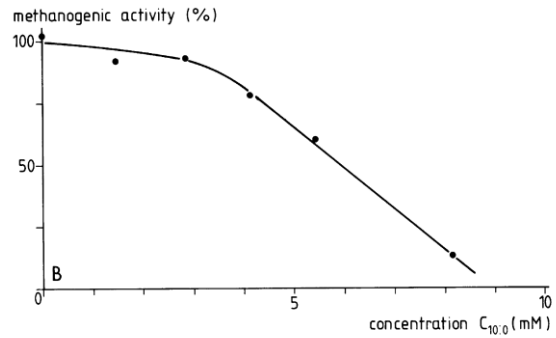
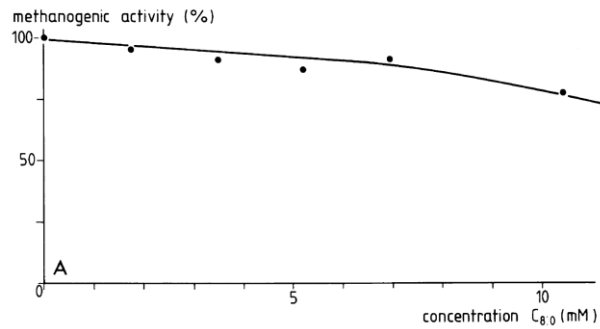
Die Hemmung tritt durch eine zu hohe Konzentration ein, die thermodynamische oder mikrobielle Hemmwirkungen auslösen können (Oh & Martin, 2010). Die zu hohen Konzentrationen von LCFA

oder flüchtigen Fettsäuren (VFA = volatile fatty acids) entstehen durch das Ungleichgewicht zwischen Säureangebot und Säureabbau. Übersteigt zum Beispiel die Säurebildung die maximale Abbaukapazität durch die Methanbildung entsteht ein Überangebot von VFA (Rosenwinkel et al., 2015). Zu hohe Konzentrationen, ob abgebaut aus Glycerin oder die in einem Fett auch immer frei enthaltenen Fettsäuren, können sämtliche Schritte einer thermophilen AD hemmen. Eine Untersuchung von Angelidaki & Ahring (1992) mit Rindergülle (5% oTS) bei 55° Grad und einem pH zwischen 6.9 bis 7.2 zeigte, dass schon eine geringe Menge an Stearinsäure (C18) von 0.3 g/l den Essig-, Propion- und Buttersäureabbau und die Methanproduktion hemmen können. Ab 1 g/l wurden nach 30 Tagen keine Methanproduktion und kein weiterer Abbau von VFA festgestellt. Bei der Zugabe von Ölsäure in einen funktionierenden Batchversuch reichte bereits eine Konzentration von 0.5 g/l, damit sowohl die Methanproduktion als der VFA-Abbau sofort stoppte (Angelidaki & Ahring, 1992).

**Tabelle 1: Übersicht hemmende Konzentrationen von LCFA von verschiedenen Quellen**

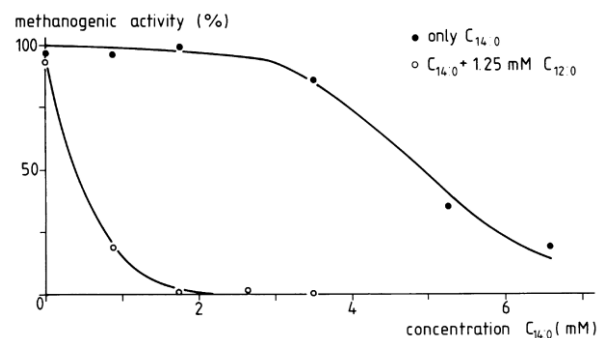
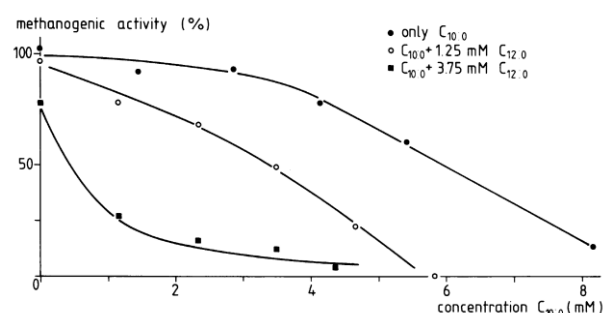
Quelle	(Angelidaki & Ahring, 1992)	(Angelidaki & Ahring, 1992)	(Koster & Cramert, 1987)	(Koster & Cramert, 1987)	(J. A. Lalman & Bagley, 2001)
Bemerkung	Verzögerungen im Abbau erhöht	kein Abbau mehr festgestellt	Methanogene Aktivität Hemmung startet	Methanogene Aktivität noch bei 50%	Hemmung Acetatabbau
	[g/l]	[g/l]	[g/l]	[g/l]	[g/l]
Stearinsäure (C18)	0.30	1.00			
Ölsäure (C18-1)	0.20	0.50	0.68	> 2.82	0.03
Palmitinsäure (C16)					
Myristinsäure (C14)			0.59	1.35	
Laurinsäure (C12)			0.32	0.86	
Caprinsäure (C10)			0.45	0.83	
Caprylsäure (C8)			0.97	0.63	

Koster & Cramert (1987) machten ähnliche Versuche und testeten nebst der einzelnen Wirkung von fünf LCFA auch Kombinationen von mehreren LCFA auf die methanogene Aktivität. Die Versuche wurden bei 30° Grad, einem auf 7 gehaltenem pH und mit Granulat aus Abwasser einer Kartoffelverarbeitungsfabrik als Substrat durchgeführt. Die Resultate zeigen (Tabelle 1 und Abbildung 5 & Abbildung 6), dass Kombinationen noch eine viel stärkere Hemmung verursachen. Zusätzlich wurde die Methanproduktion bei verschiedenen Konzentrationen von Laurinsäure (C12) und verschiedenen Biomassenbelastung gemessen. Je höher die Konzentrationen waren, desto tiefer fiel der Methanertrag aus, wobei die Biomassenbelastung nur einen geringen Einfluss hatte (Koster & Cramert, 1987).



**Abbildung 5: Verbleibende methanogene Aktivität nach Exposition mit Caprylsäure (A), Caprinsäure (B), Laurinsäure (C), Myristinsäure (D), und Ölsäure (E). 5 mM = 1 g/l, 10 mM = 2 g/l (Koster & Cramert, 1987)**

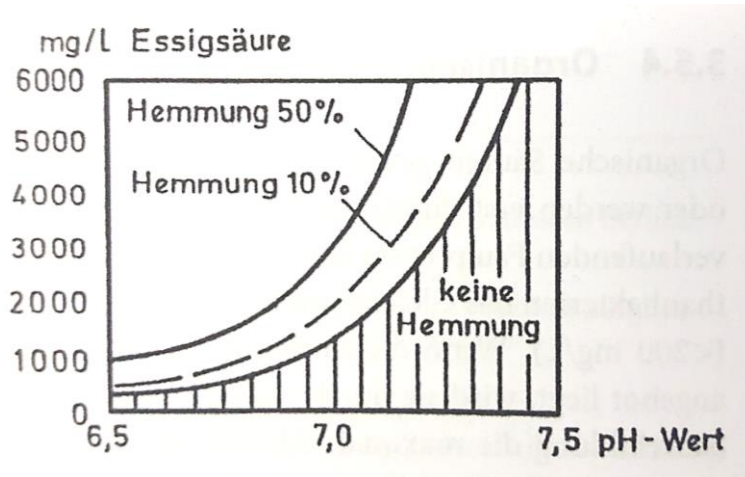
**Abbildung 6: Verbleibende methanogene Aktivität nach Exposition mit Caprinsäure und verschiedenen Mengen Laurinsäure (unten links) und Myristinsäure mit zusätzlicher Laurinsäure (unten rechts) 5 mM = 1 g/l, 10 mM = 2 g/l (Koster & Cramert, 1987)**



Ein Versuch von J. Lalman & Bagley (2002) bestätigt die höhere Hemmwirkung von kombinierten Fettsäuren. So ist die Grössenordnung der Hemmung wie folgt: 0.3 g/l gemischter LCFA > 0.1 g/l gemischter LCFA > 0.1 g/l Linolsäure > 0.1 g/l Ölsäure und > 0.1 g/l Stearinsäure. Zusätzlich stellte man fest, dass die Hemmung des Buttersäuren Abbaus stärker ist, je ungesättigter die LCFA sind



(J. Lalman & Bagley, 2002). Kroiss (1986) hat für eine Gesamtessigsäurekonzentration die Hemmung der Methanbildung in Abhängigkeit vom pH-Wert dargestellt (Abbildung 7). Je tiefer der pH, desto geringere Mengen verursachen bereits eine Hemmung. Das Anhäufen von VFA bewirkt meist noch eine Absenkung des pH und verstärkt so den Hemmeffekt noch zusätzlich (Kroiss, 1986).



**Abbildung 7: Hemmung der Methanbildung in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Essigsäurekonzentration (Kroiss, 1986)**

Um eine Hemmung zu verhindern und die Methanproduktion zu verbessern, könnte eine Vorbehandlung von Fetten und Ölen, welche die Triglyceride und LCFA bereits zu VFA abbauen, einen Beitrag leisten, da bei VFA die Hemmungskonzentration für die Methanbildung höher ist (6.7 bis 9 mM) (Harris & McCabe, 2015). Bei der Zugabe von Lipase-Enzymen zu Schlachthausabwasser steigerte den Fettabbau in der Hydrolyse um 35% (Harris & McCabe, 2015).

### 2.3.2 Co-Vergärung

Long et al. (2012) überprüfte wissenschaftliche Literatur und fasst die Ergebnisse für eine Co-Vergärung mit FOG zusammen. Gefahren bei einer FOG Co-Vergärung sind: Hemmungen der Biologie, Schlammauftrieb, Schlammförmung, Bildung von Schwebeteilchen und Flocken (Hidalgo et al., 2015), Verstopfung von Rohrleitungen, Pumpen und anderen technischen Einrichtungen. In der Tabelle im Anhang B sind verschiedene Experimente mit FOG und deren LCFA-Hemmungskonzentrationen zusammengefasst, die sich teilweise mit der Tabelle 1 in dieser Arbeit überschneiden. Laut mehreren Autoren kann bei der TPAD eine grössere FOG-Belastung gefahren werden, da die Hydrolyse Stufe einen besseren Abbau ermöglicht (Long et al., 2012). In einem Versuch von Beccari et al. (1998) konnte der Lipidabbau in einem Laborversuch mit einer Hydrolyse um das 1.9-fache erhöht werden.

In der Literatur werden oft Versuche mit Fettschlamm aus dem Vorklärbecken einer ARA und Klärschlamm beschrieben. So wird die Biogasausbeute bei einem oTS-Fettschlammanteil von 60% um 55% erhöht (Noutsopoulos et al., 2013) oder bei einem semikontinuierlichen Laborreaktor konnten

mit oTS-Fettschlammanteilen von 12-18% der Biogasertrag um 28-82% gesteigert werden (Grosser & Neczaj, 2016). Bei einem 0.2% Volumenanteil Fettschlamm im mesophilen Temperaturbereich konnte nach einer HRT von 30 Tagen zum Beispiel aber auch keine Veränderung des spezifischen Methanertrags festgestellt werden (Martínez et al., 2012).

Es sind aber auch andere Co-Vergärungsversuche zu finden. So hat Hidalgo et al. (2015) bei einer zweistufigen AD die Co-Vergärung von Schweinegülle und Pflanzenölen aus der verarbeitenden Industrie (pH 6.5, oTS 37.4, Fettanteil 49.6%) untersucht. Die Versuche wurden bei 37°C und mit einer Verweilzeit von 0.1, 1, 2 und 4 Tagen in der Hydrolyse und 11.5, 15, 18 und 20 Tagen in der Methanogenese durchgeführt. Der pH blieb stabil und als optimale Verweilzeit wurden 20 (2 und 18) Tage ermittelt. Die meisten gefundenen LCFA in den Rückständen waren: Ölsäure (45.65%), Linolsäure (31.76%), Palmitinsäure (13.84%) und Stearinsäure (5.92%). Parallel wurde ein BMP-Versuch bei 37° und pH-Wert 7.5 mit Schweinegülle als Inokulum gemacht. Es wurden fünf verschiedenen Öl / Schweinegülle (1/0, 1/1, 1/3, 1/5) Verhältnisse mit einer Konzentration von 6.5 g/l untersucht. Das Methanpotential [NI/kg oTS] betrugen für 1/0 = 824, 1/1 = 670, 1/3 = 603 und 1/5 = 577.

Bei einer Co-Vergärung von Schweinegülle mit Sardinenölabfällen konnte die Methanausbeute im Vergleich zur reinen Schweinegülle mit dem Verhältnis Gülle-Öl von 95:5 (OLR Öl=5.2 kg oTS/(m<sup>3</sup>\*d)) um das 4-fache gesteigert werden. Der Versuch wurde unter mesophilen Bedingungen (35-37°C) und mit einer HRT von 16 Tagen durchgeführt und der pH-Wert pendelte sich zwischen ca. 5.7 und 6.7 ein, ohne das Hemmeffekte festgestellt wurden. (Ferreira et al., 2012).

Mehrere Substrate Co-vergärt haben Alvarez & Lidén (2008) in einer semikontinuierlichen Vergärung bei 35°C und ORL zwischen 0.3 bis 1.3 kg oTS/(m<sup>3</sup>\*d). Sie verwendeten Rinder- und Schweinschlachtabfälle, Rinder- und Schweinemist und Obst- und Gemüseabfälle und erstellten verschiedene Mischungen. Mischungen mit allen drei Substratgruppen ergaben höhere Methanerträge, als die Mischungen mit einer oder zwei Substratgruppen. Bei einer Mischung trat durch eine zu hohe VFA-Konzentration und bei zwei weiteren durch einen zu tiefen pH eine Hemmung ein. VFA-Konzentration von 10 g/l war noch nicht toxisch. (Alvarez & Lidén, 2008)

Pikt et al. (2014) haben lipid- und proteinreiche feste Schlachtabfälle mit Rindergülle bei 37°C Co-Vergärt. Die Zugabe von Schlachtabfällen, dessen TS aus 42.2% Lipiden und 35.8% Proteinen bestehend, von bis zu 5% des Gärvolumens (ORL 3.76 kg oTS/(m<sup>3</sup>\*d)), ergaben einen stabilen Prozess ohne LCFA- oder NH<sub>3</sub>-Hemmung bei einer 3.5-fachen Steigerung der Biogasproduktion. Nur die Zugabe von Lipiden als technisches Fett mit der Menge von 2% des Vergärvolumens führte zur Bildung von schwimmendem Granulat und einer Hemmung des Prozesses, obwohl die reine Belastung der Lipide ähnlich hoch war, wie beim Lipid-Protein-Gemisch. (Pitk et al., 2014)

Für die Prozesstemperatur empfiehlt Long et al. (2012) thermophile Bedingungen (55°C), weil dabei eine kleinere Schaumschicht entsteht, als bei mesophilen Bedingungen (35°C). Auch sind die Lipide

im thermophilen Bereich für die Mikroorganismen und ihre Enzyme leichter zugänglich. Nachteile sind die höheren Prozesskosten und die höhere Anfälligkeit von thermophilen Bakterien auf erhöhte LCFA-Konzentrationen.

### 3 Material und Methoden

Wie in der Einleitung beschrieben werden verschiedene Laborversuche durchgeführt, um den Einfluss des Fettschlamm und dessen Co-Substrate in Bezug zur Hydrolyse und eines stabileren Biogasprozesses zu untersuchen. Im folgenden Kapitel werden zuerst die Substrate und die vier durchgeführten Versuche beschrieben und anschliessend die verschiedenen Analysen, die bei einem oder mehreren Versuchen Anwendung fanden.

#### 3.1 Substrate

Die Substrate stammen alle aus dem Betrieb der WIGAKO AG und werden in dieser Form in der Biogasanlage verwertet. Neben dem Fettschlamm wurde die Wahl der Co-Substrate auf Grundlage einer Massenbilanz, die von der Fachstelle UBIOT im Rahmen des Projekts HYKOM für die Biogasanlage der WIGAKO AG erstellt wurde, getroffen. Als Kriterien wurde die Menge Frischmasse (FM) und die verarbeitete Menge oTS pro Jahr, sowie der prozentuale Anteil des einzelnen Substrats am gesamten Methanertrag berücksichtigt. Zusätzlich wurde darauf geachtet, dass alle Stoffklassen (Kohlenhydrate, Proteine, Lipide) vertreten sind. Die Substrate wurden anschliessend von der WIGAKO AG im täglichen Betrieb über zwei Wochen gesammelt und direkt eingefroren, bis sie abgeholt wurden. Von den erhaltenen Substraten wurden nur die vier in der Tabelle 2 aufgelisteten in den Laborversuchen verwendet.

**Tabelle 2: Übersicht Substratauswahl mit den Verbrauchsdaten der WIGAKO AG im Jahr 2018 (Senn et al., 2019)**

Susbstrat	Menge [t FM/a]	TS/Jahr [t/a]	oTS/Jahr [t/a]	Methanertrag/Jahr [Nm <sup>3</sup> /a]	relativer Anteil Methanertrag [%]
Fettschlamm	975	634	626	523'319	73
Haco-Kaffeersatz	244	85	85	28'634	4
Kartoffelsuppe	292	57	49	18'375	3
Schweinegülle	375	17	14	3'510	0.5

Das Material wurde nach dem Transport vollständig aufgetaut und unter dauerhafter, möglichst homogener Durchmischung auf 50g und 100g proportioniert und wieder eingefroren, damit das Material für die Versuche einfacher genutzt werden kann. Für alle Substrate wurde eine pH-Messung und eine TS/oTS-Bestimmung durchgeführt. Der Fettschlamm wurde mit den drei verschiedenen Methoden Brutschrank/Muffelofen, Gefriertrockner und Moisture Analyzer und die Co-Substrate nur mit dem Brutschrank/Muffelofen bestimmt.

### 3.2 Versuch 1 (anaerobe semikontinuierliche Hydrolyse)

In einem ersten Versuch wurde der Einfluss der Temperatur und von verschiedenen Substraten bei einer nachgestellten semikontinuierlich beschickten Hydrolyse untersucht. Dazu wurden in 1000ml Flaschen (Duran Original Laborflasche, DWK Life Sciences GmbH, Deutschland) aus den Substraten der Tabelle 2 und einem Inokulum sechs verschiedenen Mischungen gemäss Tabelle 4 vorbereitet. Als Inokulum wurde Material aus dem Fermenter der landwirtschaftlichen Biogasanlage der Krone GmbH in Wädenswil, welches am Tag des Versuchsstarts abgeholt wurde, verwendet.

**Formel 2: Hydraulische Verweilzeit (VR = Reaktorvolumen [m<sup>3</sup>]; V = täglich zugeführtes Substratvolumen [m<sup>3</sup>/d]) (FNR, 2016)**

$$HRT [d] = \frac{V_R [m^3]}{\dot{V} \left[ \frac{m^3}{d} \right]}$$

Das Verhältnis zwischen Substrat/Substratmischung und Inokulum wurde so gewählt, dass mit einer täglichen Entnahme und Bestückung von 100 g Substrat eine Verweilzeit von 3 Tagen erreicht wird (Formel 2). Die Startmischungen bestehen deshalb aus total 300 g, davon 100 g Inokulum und 200 g Substrat, respektive bei den Proben 1-1-1 und 1-2-1 aus 100 g Inokulum und 50 g Substrat.

**Formel 3: Raumbelastung BR (m = zugeführte Substratmenge je Zeiteinheit [kg/d]; c = Konzentration der organischen Substanz [% oTS]; VR = Reaktorvolumen [m<sup>3</sup>]) (FNR, 2016)**

$$B_R \left[ \frac{kg \ oTS}{m^3 d} \right] = \frac{\dot{m} \left[ \frac{kg}{d} \right] \times c [\% \ oTS]}{V_R [m^3] \times 100}$$

$B_R$

Andere wichtige Richtgrössen wurde wie die Probenmengenkonzentration oder die organische Raumbelastung (Formel 3) wurden erst später in der Aufarbeitung der Resultate berücksichtigt. Die organische Raumbelastung (ORL = organic loading rate) gibt an, wie viel kg oTS pro Zeiteinheit (d) dem Fermentervolumen je m<sup>3</sup> zugeführt wird. Die ORL beträgt, rückwirkend ausgerechnet, fast 214 kg oTS/(m<sup>3</sup>\*d).

**Formel 4: Probenmengenkonzentration zur Verminderung von Hemmungen in einem Gäransatz (VDI, 2006)**

$$\frac{oTS_{Substrat}}{oTS_{Impfeschlamm}} \leq 0.5$$

Die Probenmengenkonzentration bezogen auf den oTS-Gehalt vom Substrat und Impfung sollte für einen ungehemmten Prozess laut VDI (2006) das Verhältnis von 0.5 nicht überschreiten. Die Konzentrationen für den Versuch 1 betrugen: x-x-1: 8.3, x-x-2: 14.3, x-x-3: 3.0, x-x-4: 0.86; x-x-5: 18.2 und x-x-6: 17.1.

**Tabelle 3: Namensgebung anaerobe semikontinuierliche Hydrolyse**

Substratmischung	Temperatur	
	42°	55°
Fettschlamm	1-1-1	1-2-1
Kaffee	1-1-2	1-2-2
Kartoffelsuppe	1-1-3	1-2-3
Schweinegülle	1-1-4	1-2-4
Fettschlamm + Kartoffelsuppe	1-1-5	1-2-5
Fettschlamm + Schweinegülle	1-1-6	1-2-6

Die vorbereiteten Flaschen wurden mit einem speziellen Deckel mit Gummidichtung und zwei Gasanschlüssen geschlossen und beide Anschlüsse mit Laborschläuchen (Tygon S3™ E-3603, Saint Gobain Performance Plastics, Frankreich) ausgestattet. Der eine Schlauch wurde mit einem Mehrwegehahn (Discofix Mehrwegehahn, B. Braun Melsungen AG, Deutschland) und der andere mit einen Gasprobenahmebeutel (Multi-Layer Foil Gas Probenahmebeutel, Restek GmbH, Deutschland) verbunden. Über den Mehrwegehahn wurden die Flaschen mit Stickstoff gespült, um den Prozess anaerob zu halten. Der Gasprobenahmebeutel wurde jeweils zur Spülung entfernt und wieder angehängt. Alle Mischungen wurden bei den zwei Temperaturen 42° (mesophiler Bereich) und 55° Grad (thermophiler Bereich) angesetzt (Kaltschmitt et al., 2009). Dazu wurden je sechs Flaschen in einem Inkubationsschüttler (Multitron Standard Inkubationsschüttler, Infors HAT, Infors AG, Schweiz) gestellt, temperiert und bei 140 Rpm geschüttelt.

**Tabelle 4: Versuchsaufbau semikontinuierliche Hydrolyse**

Substratmischung	Temperatur		Substrat	Inokulum	Bestückung	
	[°]	[°]	[g]	[g]	raus [g]	rein [g]
Fettschlamm	42	55	100	50	50	50
Kaffee	42	55	200	100	100	100
Kartoffelsuppe	42	55	200	100	100	100
Schweinegülle	42	55	200	100	100	100
Fettschlamm + Kartoffelsuppe	42	55	100+100	100	100	50+50
Fettschlamm + Schweinegülle	42	55	100+100	100	100	50+50

Im Abstand von jeweils einem Tag wurden die Flaschen semikontinuierlich bestückt. Zuerst wurde jeweils 100g entnommen, danach mit 100g neuem Substrat, dass kurz davor aufgetaut wurde, neu

befüllt. Anschliessend wurden die Flaschen mit Stickstoff gespült und wieder in den Schüttler gestellt. Die entnommenen Proben wurden in zwei 50 ml Kunststoff Zentrifugenröhrchen mit Drehverschluss (Corning REF 430829 50 ml Centrifuge Tube, Corning Incorporated, USA) abgefüllt und zur Hälfte für spätere Analysen direkt eingefroren. Die Bestückung wurde an drei Tagen hintereinander zur gleichen Zeit durchgeführt (Tag 1 = Reihe a, Tag 2 = Reihe b, Tag 3 = Reihe c). Danach wurden die Flaschen im Inkubationsschüttler gelassen und am Tag 4 (= Reihe d) und später auch noch am Tag 22 (= Reihe e) weitere Proben entnommen.

Für jede entnommene Probenahme wurde eine pH-Messung, eine GC/MS-Analyse und eine TS-Bestimmung mittels Gefriertrocknen durchgeführt, da befürchtet wurde, dass sich bei einer Brutschrankbestimmung zu viele Stoffe verflüchtigen könnten. Bei ausgewählten gefriertrockneten Proben wurde anschliessend mit einer Fettextraktion der Gesamtfettanteil bestimmt.

### 3.3 Versuch 2 (anaerobe Batch-Hydrolyse)

Der Batch-Versuchsaufbau wurde bis auf die Mischungen und die tägliche Beschickung gleich aufgebaut wie der semikontinuierliche Hydrolyse Versuch, der in Kapitel 3.2 genauer beschrieben ist. Da die Analyse des semikontinuierlichen Versuchs gezeigt hat, dass eigentlich kein Fett abgebaut wurde (siehe Kapitel 4.2), wurden die Mischungen für den Batch-Versuch anders zusammengesetzt. Die Konzentration des Fettschlammes wurde gemäss Kapitel 3.6 angepasst und gesenkt. Weiter wurden drei verschiedene Inokula verwendet, da die Literaturrecherche in Kapitel 2.3 zeigte, dass an Fett angepasst Mikroorganismen den Fettabbau fördern könnten.

Die Mikroorganismen im Fermenter der WIGAKO AG sind sich im Gegensatz zur Biogasanlage der Krone GmbH den Fettabbau durch die grossen Mengen Fettschlamm pro Jahr gewohnt. Da aus logistischen Gründen kein Inokulum von der WIGAKO AG zum Vergleich in Frage kam, wurden Inhalte von zwei anderen Fermentern zum Vergleich mit der Krone GmbH («Inok y») als Inokulum herbeigezogen. Material vom Faulturm der ARA Rietliu («Inok z») in Wädenswil wurde auf Grund des Vorschlags in der VDI 4630 verwendet (VDI, 2006). Von einem Fermenter, der mit industriellen fleischhaltigen Abfällen mit hohem Eiweiss- und Fettgehalt gefüttert wird, stammt die zweite Inokulaprobe (Bezeichnet in dieser Arbeit als «Inok x»).

Mit den drei Inokula wurden die Mischungen gemäss Tabelle 5 erstellt und sie für fünf Tage bei 37° Grad und 140 Rpm in den Inkubationsschüttler gestellt. Weiter wurden bei zwei Versuchsflaschen der pH der «Inok x»-Mischung mit Pipettieren von Natronlauge und Ortho-Phosphorsäure 32% auf 9 erhöht und auf 5.5 gesenkt. Nach zwei Tagen wurden die pH-Werte kontrolliert. Der pH-Wert 5.5 blieb dabei stabil und musste nicht angepasst werden, der pH-Wert 9 wurde von 8.7 wieder auf 9 mittels Natronlauge erhöht.

**Tabelle 5: Batch-Versuchsaufbau**

Bezeichnung	pH	Temperatur [°]	Inokulum [g]	Fettschlamm [g]	Konzentration Fettsäuren [g/L]
«Inok x» 9	9	37	594.64	5.36	5
«Inok x» u	unverändert	37	594.64	5.36	5
«Inok x» 5.5	5.5	37	594.64	5.36	5
«Inok y»	unverändert	37	594.64	5.36	5
«Inok z»	unverändert	37	594.64	5.36	5

Es wurde je eine Probe der Start- und Endmischung entnommen. Eine pH-Messung und eine TS-Bestimmung mittels Gefriertrocknen durchgeführt und damit anschliessend wieder mit einer Fettextraktion der Gesamtfettanteil bestimmt.

### 3.4 Versuch 3 (BMP-Matrix)

Im Versuch 3 wurde der Einfluss von verschiedenen möglichen Faktoren auf den Fettabbau kombiniert und mittels einer Restmethanpotential (BMP)-Messung erfasst. Aus den Faktoren Inokulum, Temperatur, Konzentration, Art der Gasmessung und Zustand des Fettschlamm (Fettschlamm normal oder bereits hydrolysiert) wurde ein Standard definiert, von dem einzelne Faktoren verändert werden. Der Standard setzt sich zusammen aus: Inok-x, Fettschlamm als Substrat, Fettsäurenkonzentration von 5 g/L, einer Temperatur von 37° und es wird die Methanproduktion gemessen (siehe Tabelle 7).

Als Inokulum wurde wie im Versuche 2 Fermentermaterial der Krone GmbH («Inok y»), der ARA Rietliu z («Inok z») und das «Inok x» verwendet. Die beiden Temperaturen wurden auf 37° und 42° festgelegt und es wurde die Methan- oder die Biogasproduktion gemessen. Die Konzentration des Fettschlamm wurde gemäss Kapitel 3.6 dossiert und der Fettschlamm wurde entweder als normales Substrat hinzugefügt oder als Vorbehandlung chemisch hydrolysiert (siehe Kapitel 3.6.2). Daraus wurden die in Tabelle 7 aufgelisteten 14 verschiedenen Ansätze zusammengestellt inklusive der Blindwertbestimmung der verschiedenen Inokula. Alle Ansätze wurden dreifach durchgeführt. Von der Substrat-Inokulum-Mischung wurden 450 g in 0.5 Liter Flaschen (Duran Original Laborflasche, DWK Life Sciences GmbH, Deutschland) gefüllt und die Flaschen nach dem einsetzen des Rührwerks mit Stickstoff gespült.

Zur Messung der Methan- und Biogasproduktion wurde das Komplettsystem AMPTS II der Firma Bioprocess control (Schweden) verwendet. Das System besteht aus einer Probeninkubationseinheit, in das die mit 450 g befüllten 0.5 Liter Flaschen auf die gewünschte Temperatur von 37° (resp. 42°)



erwärmt und diskontinuierlich in beide Richtungen gerührt wurden (alle 5 Minuten für 50 Sekunden bei 80 Rp). Das entstehende Biogas wurde über eine Kohlendioxid-Absorptionseinheit (3 M NaOH) geleitet und von einer Durchflusszelleneinheit mittels Gaswippen gezählt. Für die Messung der Biogasproduktion der Serien 9 und 10 wurden die Absorptionseinheiten nicht mit dem CO<sub>2</sub> Absorber gefüllt und das Gas nach den Wippen in einem Gasprobenahmebeutel (Multi-Layer Foil Gas Probenahmebeutel, Restek GmbH, Deutschland) gesammelt. Die Gasprobenahmebeutel wurden zweimal über ein Mehrgasmessgerät (Dräger X-am 7000® Mehrgasmessgerät, Dräger Safety & Co. KGaA, Deutschland) geleert, um dabei die Gaszusammensetzung ermitteln zu können.

Weil bei den Ansätzen 4 und 12 zwischen den drei parallel geführten Flaschen nach 13 Tagen extreme Unterschiede in der Methanproduktion beobachtet wurden, wurden bei den beiden Flaschen mit dem tiefsten und höchsten Ertrag der pH erneut gemessen, um eine allfällige Hemmung durch einen zu tiefen pH vorbeugen zu können. Es wurden jedoch keine zu tiefen pH-Werte (Flasche 4-1: 7.9 / Flasche 4-2: 7.8 / Flasche 12-1: 7.2 / Flasche 12-3: 7.2) festgestellt. Die Flaschen wurden wieder mit Stickstoff gespült und in den AMPTS II zurückgestellt. Der Einfluss auf den Methanertrag wurde als so gering eingestuft, dass er in den Resultaten nicht berücksichtigt wird.

Die Auswertung der Resultate wurde mit einem vorbereiteten Excel-File der Fachstelle UBIOT durchgeführt. Die eingefüllten Substrat- und Inokulumsmengen, sowie die TS/oTS-Werte der Substrate und der verschiedenen Inokula wurden erfasst und eingetragen. Die Methan- und Biogasproduktion in Normmilliliter der einzelnen Ansätze pro Stunde wurden im Bedingungsprogramm des AMPTS II exportiert und ins Excel übertragen. Durch die eingetragenen Mengen und den oTS-Anteilen wurden die exportierten Werte in Normliter Methan pro kg oTS umgerechnet. Anschliessend wurde von jedem Ansatz der Mittelwert aus der Dreifachbestimmung des jeweiligen Inokula als Blindwert abgezogen, um die Methanproduktion des zugegebenen Fettschlammes zu erhalten (ausser bei den Biogasansätzen 9 und 10). Von den dreifachbestimmten Ansätzen mit Inokulum und Substrat wurden die Mittelwerte und die Standardabweichung berechnet.

Bei drei Ansätzen (10.1, 10.2, 13.2) wurde nach 14 Stunden festgestellt, dass kein Methan gezählt wurde. Das Problem wurde behoben, indem die Spülschläuche am Rührwerk gewechselt wurden. Damit diese Ansätze für den Mittelwert der Dreifachbestimmung genutzt werden können, wurde bei der Auswertung beim Startzeitpunkt der Methanzählung der Wert eines von Anfang an funktionierenden parallel Ansatzes zu diesem Zeitpunkt hinzugezählt. Bei Ansätzen, die nicht bis zur letzten exportierten Stunde einen Wert aufweisen, wurde der letzte gezählte Wert bis zum Ende kopiert, damit die vorprogrammierte Auswertung funktioniert.

Die Ansätze 9, 10, 11 im AMPTS 9 mussten nach 20 Tagen abgebrochen werden, da die Laborgeräte anderweitig benötigt wurden, weshalb bei diesen Ansätzen nur Werte bis 473 h nach Startpunkt

vorhanden sind. Das Auswertungstool wurde so angepasst, dass ein Vergleich von allen Ansätzen bei 473 h möglich ist. Zudem wurde der Mittelwert beim Ansatz 13 nur aus einer Doppelbestimmung gebildet, da eine Probe nicht vergleichbare Resultate lieferte.

Weiter wurde am 33 d nach Versuchsstart festgestellt, dass im AMPTS 8 (Ansätze 7, 8, 12, 13, 14) Ansatzmaterial aus den Flaschen über die CO<sub>2</sub>-Absorber bis in die Gaswippen gelangen konnte. Dadurch wurde der Widerstand der Gaswippen verändert, was die Werte ab diesem Zeitpunkt nicht mehr repräsentativ macht. Dazu wurde am 37 Tag nach Versuchsstart entdeckt, dass in den Probeninkubationseinheiten das Wasser komplett verdunstet ist und die Flaschen somit nicht mehr geheizt wurden. Für die Resultate werden deshalb nur die Werte bis 750 h Laufzeit (31 d) verwendet.

Für den oTS spezifischen Methanertrag wurden zudem die TS/oTS-Anteile von den drei unterschiedlichen Inokula mit Brutschrank/Muffelofen bestimmt. Die Daten für den Fettschlamm wurden in Kapitel 4.1 bereits erhoben und wurden übernommen. Wobei der ermittelte oTS-Gehalt von über 100% nicht stimmt und deshalb der Wert aus der WIGAKO-Massenbilanz von 98.8% verwendet wird. Für eine Prozesskontrolle bei allfälligen Störungen wurde zudem der pH-Wert von allen Ansätzen vor dem Start des Versuchs gemessen.

In Tabelle 6 sind die TS/oTS-Bestimmungen der verschiedenen Inokula mit den verwendeten Werten für die Auswertung aufgeführt. Da alle Inokula zuerst gesiebt wurden sind die Werte entsprechend tief.

**Tabelle 6: TS/oTS-Gehalt-Bestimmung der drei Inokula für die BMP-Matrix im Brutschrank/Muffelofen. Angaben Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) von einer Doppelbestimmung. (Berechnungen im digitalen Anhang)**

Substrat	Best.	TS [% FM]		oTS [% TS]		oTS [% FM]	
		MW	SD	MW	SD	MW	SD
«Inok x»	2-fach	5.7	0.11	76.0	1.03	4.4	0.03
«Inok y»	2-fach	5.7	0.01	64.5	0.27	3.7	0.01
«Inok z»	2-fach	2.0	0.07	61.9	2.00	1.2	0.01

Tabelle 7: Versuchsmatrix BMP Versuch 3

ID	Ansatzbezeichnung	Substrat	Substrat Menge	Konz. Fettsäuren	Inok	Inok Menge	Temp	Messung	AMPTS	pH Start
			[g]	[g/L]		[g]	[°C]			
1	Inokulum Inok-x	-			Inok-x	450	37	CH <sub>4</sub>	7	8.1
2	Inokulum «Inok y»	-			«Inok y»	450	37	CH <sub>4</sub>	7	8.0
3	Inokulum «Inok z»	-			«Inok z»	450	37	CH <sub>4</sub>	7	7.5
4	Standard	Fettschlamm	4.02	5.0	Inok-x	445.98	37	CH <sub>4</sub>	7	8.0
5	Standard, Temp.erhöht	Fettschlamm	4.02	5.0	Inok-x	445.98	42	CH <sub>4</sub>	1	8.1
6	Standard, c=Tief	Fettschlamm	2.01	2.5	Inok-x	447.99	37	CH <sub>4</sub>	7	8.1
7	Standard, c=real	Fettschlamm	70.71	88.0	Inok-x	379.29	37	CH <sub>4</sub>	8	7.3
8	Standard, c=hoch	Fettschlamm	8.03	10.0	Inok-x	441.97	37	CH <sub>4</sub>	8	7.9
9	Standard, Mess. Biogas	Fettschlamm	4.02	5.0	Inok-x	445.98	37	Biogas	9	8
10	Standard, Mess. Biogas, c=real	Fettschlamm	70.71	88.0	Inok-x	379.29	37	Biogas	9	7.2
11	Standard, «Inok y»	Fettschlamm	4.02	5.0	«Inok y»	445.98	37	CH <sub>4</sub>	9	7.7
12	Standard, «Inok z»	Fettschlamm	4.02	5.0	«Inok z»	445.98	37	CH <sub>4</sub>	8	6.9
13	Standard, Fett aufg.	Fettsäuren	2.25	5.0	Inok-x	447.75	37	CH <sub>4</sub>	8	7.9
14	Standard, Fett aufg, c=tief	Fettsäuren	1.13	2.5	Inok-x	448.87	37	CH <sub>4</sub>	8	8.0

### 3.5 Restgaspotential der bestehenden Anlagenkonfiguration

Für die beiden Fermenter (Gross und Klein) und das Lager Silo wurde das Restmgaspotential untersucht. Der Versuch wurde ebenfalls mit dem Komplettsystem AMPTS II der Firma Bioprocess control (Schweden) gemäss Kapitel 3.4 durchgeführt. Die Probeflaschen wurden mit 450 g Inhalt gefüllt und jeweils 3-fach angesetzt. Die Temperatur in der Probeninkubationseinheit wurde auf 42°C eingestellt. Die Proben wurden alle 500 Sekunden bei 80 Rpm 45 Sekunden diskontinuierlich gerührt und das Biogas über eine Kohlendioxid-Absorptionseinheit (3 M NaOH) geleitet und von einer Durchflussszelleneinheit mittels Gaswippen gezählt.

Für den BMP Versuch wurden zuerst der TS/oTS-Gehalt der drei Ansätze mit Brutschrank/Muffelofen bestimmt (siehe Tabelle 8). Von der Startmischung wurde je eine Probe extrahiert und eine GC/MS-Messung durchgeführt, um festzustellen, ob noch LCFA in den Fermentern und Lager Silo vorhanden sind.

**Tabelle 8: TS/oTS-Bestimmung des Gärguts in den zwei Fermentern und Lager Silo der WIGAKO AG mittels Brutschranks und Muffelofen. Angaben Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) von einer Doppelbestimmung.**

Substrat	Best.	TS [% FM]		oTS [% TS]		oTS [% FM]	
		MW	SD	MW	SD	MW	SD
Fermenter Gross	2-fach	6.5	0.03	75.3	0.14	4.9	0.03
Fermenter Klein	2-fach	5.2	0.08	70.7	0.53	3.7	0.09
Lager Silo	2-fach	3.4	0.1	69.9	0.37	2.4	0.09

Die BMP-Daten wurde mit dem gleichen Excel-Tool gemäss Beschrieb im Kapitel 3.4 ausgewertet und die GC/MS-Daten gemäss Analyse Beschrieb im Kapitel 3.7.4. Mit dem Unterschied, dass alle Proben mit der gleichen Menge Substrat und der gleichen Verdünnung erstellt wurden und deshalb keine Umrechnungen in der Component Area nötig sind.

### 3.6 Fettschlamm

Wie im Kapitel 3.3 beschrieben, wurden für die Versuch 2 und 3 die Fettkonzentrationen angepasst. Zusätzlich wurde für den Versuch 3 der Fettschlamm chemisch hydrolysiert. Das Vorgehen für die Verdünnungen und die chemische Hydrolyse werden im Folgenden beschrieben.

### 3.6.1 Konzentrationen

Für die Versuche 2 und 3 sollen die Fettkonzentrationen an die realen Bedingungen der WIGAKO AG angepasst werden. Für die Berechnung wurden Zahlen aus der Massenbilanz zum Jahr 2018 verwendet. Der Betrag der total eingesetzten FM für das Jahr 2018 war in Tonnen und m<sup>3</sup> bekannt. Ebenso die Menge an Fettschlamm, mit der die Biogasanlage pro Jahr gefüttert wurde. Mit diesen beiden Grössen wurde die jahresdurchschnittliche Fettschlammkonzentration pro FM mit berechnet:

**Formel 5: Jahresdurchschnittliche Fettschlammkonzentration**

$$Fettschlamm\ real\ \left[\frac{g}{l\ FM}\right] = \frac{Fettschlamm\ \left[\frac{t}{a}\right]}{FM\ Total\ \left[\frac{m^3}{a}\right]}$$

Das Resultat der realen Fettschlamm Konzentration ergibt 157.13 g/l FM. Um die reale Konzentration mit der hemmenden Konzentration von Fettsäuren bei der anaeroben Vergärung in der Literatur vergleichen zu können, wurde die reale Konzentration anschliessend auf seinen theoretischen Fettsäurenanteil heruntergerechnet. Wobei die Berechnung nur eine grobe Grössenordnung zeigen soll. Es wurde angenommen, dass es sich bei der oTS des Fettschlamm ausschliesslich um Fettmoleküle handelt und der Fettsäureanteil 90% des Gewichts ausmacht. Der Anteil von 90% wurde mit Hilfe der molaren Masse ermittelt, indem angenommen wurde, dass es sich um ein einfaches Triglycerid handelt, dass mit drei Ölsäuren verestert ist. Nach der Hydrolyse stehen drei Ölsäuren (molare Masse pro Säure: 282.52 g/mol) einem Glycerin (molare Masse: 92.11 g/mol) gegenüber, was einen Fettsäurenanteil von rund 90% entspricht (Stieger, 2007). Unter der Annahme, dass alle Fettmoleküle im Fettschlamm hydrolysiert wurden, wurde gemäss Tabelle 9 eine durchschnittliche reale Fettsäurenkonzentration von 88 g/L ermittelt.

**Tabelle 9: Fettsäurenanteil in der Fettschlammkonzentration von 157.13 g/l**

Bezeichnung	Faktor	Wert
	[%]	[g/l]
Fettschlamm real / FM Fermenter		157.13
TS-Gehalt / FM Fettschlamm	63.00	98.99
oTS-Gehalt / TS	98.80	97.81
Fettsäuren-Gehalt / oTS	90.00	<b>88.03</b>

Verglichen mit der Literatur (siehe Tabelle 1) ist dieser Wert um ein Vielfaches höher. So tritt gemäss Angelidaki & Ahring (1992) bei der anaeroben thermophilen Vergärung bereits eine Abbauehemmung ab einer Ölsäurenkonzentration von 0.2 g/l ein. Obwohl die ermittelte reale Fettsäurenkonzentration von 88 g/l und die Literaturwerte nicht direkt verglichen werden können, wurde die Konzentration für

die weiteren Versuche reduziert und auf 5 g/l festgelegt. Mit diesem Wert wurden für die Füllmengen von 450ml (Versuch 3) und 600ml (Versuch 2) und die verschiedenen Konzentrationen mit dem gleichen Rechnungsweg wie in Tabelle 9 die Werte in Tabelle 10 berechnet (Anhang C):

**Tabelle 10: Übersicht Fettschlammmengen für die Versuche 2 und 3.**

Bezeichnung	Konzentration Fettsäuren	Menge Fettschlamm	
	[g/l]	Flasche 450ml [g]	Flasche 600ml [g]
Verhältnis real	88	70.71	94.28
Verhältnis neu	5	4.02	5.36
Verhältnis neu (Faktor 0.5)	2.5	2.01	2.68
Verhältnis neu (Faktor 2)	10	8.04	10.72

### 3.6.2 Chemische Hydrolyse

Für einen Teil der Ansätze beim Versuch 3 (siehe Kapitel 3.4) wurde der Fettschlamm als Vorbehandlung chemisch hydrolysiert, damit sämtliches Fett aus dem Fettschlammsubstrat bereits als freie langkettige Fettsäuren den Mikroorganismen zur Verfügung steht. Die Methode wurde an eine Publikation von (Aveldano & Horrocks, 1983) angelehnt. In einer 1000 ml Flasche (Duran Original Laborflasche, DWK Life Sciences GmbH, Deutschland) wurde 100 g Fettschlamm vorgelegt und eine 600 ml 0.5 M HCl 32% Acetonitril-Wasser Mischung (Verhältnis 9:1 Vol/Vol) zugegeben. Die Mischung wurde für 40 Stunden in den Inkubationsschüttler bei 105°C und 120 Rpm gestellt. Das entstandene 2-Phasengemisch wurde in einen Scheidetrichter gefüllt und die untere Phase abgetrennt. Die obere Phase wurde bei 40°Grad und in einem 90 mbar Vakuumrotationsverdampfer vollständig eingeeengt, was eine gelblich-dunkelbraune Lösung ergab. Aus der Ausgangslösung mit 100g Fettschlamm wurden 46.95g aufgeschlossene Fettsäuren gewonnen.

## 3.7 Analysen

Für die Versuche 1 bis 4 wurden verschiedene Analysen durchgeführt, die im folgenden Kapitel beschrieben werden.

### 3.7.1 FOS/TAC Messung

Die geplante FOS/TAC-Analyse konnte auf Grund der pH-Werten unter 5 (siehe Abbildung 11 und Abbildung 12) mit der zur Verfügung stehenden FOS/TAC-Methode nach Nordmann (UBIOT SOP im Aufbau) nicht durchgeführt werden.

### 3.7.2 pH Messung

Die pH-Werte wurden mit einem pH-Meter (pH-Meter 691, Methrom AG, Schweiz) gemessen und auf eine Kommastelle gerundet.

### 3.7.3 TS / oTS

Für die TS- und oTS-Ermittlung wurden je nach Material und späterer Weiterverwendung der Probe drei verschiedene Verfahren angewendet:

#### **Gefriertrockner**

Im Gefriertrockner (PowerDry PL3000, Heto Lab Equipment, JOUAN Nordic A/S, Dänemark) wurden die Proben aus dem Versuch 1 und 2 gefriertrocknet, bei denen danach noch eine Fettextraktion durchgeführt wurde. Die Proben wurden zuerst gefroren, danach in Bechergläser in den Gefriertrockner gestellt und zwischen sechs und sieben Tagen gefriergetrocknet, bis keine gefrorenen Wasseranteile in den Proben mehr festgestellt werden konnten. Die Proben wurden zu Beginn im Becherglas eingewogen und nach der Trocknung mit Hilfe der Tara wieder ausgewogen.

#### **Brutschrank / Muffelofen**

Im Brutschrank (Brutschrank IN55Plus, Memmert GmbH + Co. KG, Deutschland) wurden die Proben bei 105°C bei 24 h getrocknet. Für die oTS-Bestimmung im Muffelofen (Muffelofen P330 L3/12, Nabertherm GmbH, Deutschland) wurden die getrockneten Proben 1h lang bei 250°C und anschliessend 2 h bei 550°C verglüht. Die Zuluft des Muffelofens wurde dabei jeweils nach 30 Minuten bei 250°C und 550°C Grad geschlossen. Bei Proben mit grossem Fettanteil (zum Beispiel beim Substrat Fettschlamm) wurden den Proben vor dem Trocknungsprozess Sand beigemischt. Die Auswertung wurde mit einem vorgefertigten Excel-File der Fachstelle UBIOT mit den Angaben der Tara des Wägegefässes, Einwaage Feuchtware, Auswaage Trockenware und Auswaage Trockenware verascht durchgeführt. Die Analyse der Substrate und der BMP-Ansätze wurde mit dem Brutschrank durchgeführt.

#### **Moisture Analyzer**

Für die Bestimmung des TS des Fettschlamms wurde auf Grund der Unsicherheiten bei den anderen beiden Methoden als dritte Methode eine TS-Bestimmung im *Moisture Analyser* (Moisture Analyser HB43-S, Mettler-Toledo AG, Schweiz) gemäss SOP -BT1281a (im digitalen Anhang) durchgeführt. Die Probe wurde in die vorgesehenen Aluschalen gegeben und die Ergebnisse wurden direkt vom Gerät herausgegeben

### 3.7.4 Gaschromatographie (GC) / Massenspektrometer (MS)

Zur Identifizierung der Inhaltsstoffe und des Verlaufs des Fettabbaues der entnommenen Proben bei der anaeroben semikontinuierlichen Hydrolyse an den Tagen 1-3, 4 und 22 wurden diese mit einem GC/MS analysiert.

Die Methode des GC/MS ist intern noch in der Entwicklungsphase. Ein Problem der Methode ist noch die sinkende Empfindlichkeit betreffend der Detektierbarkeit von den verschiedenen Substanzen. Um einen Anhaltspunkt über die Empfindlichkeit zu erhalten werden zwei interne Standards (ISTD) hinzugefügt, die durch die Zusammensetzung und Retentionszeit (RT) eindeutig identifizierbar sind. Die beiden Standards Phenol-d6 (eigentlich Phenol-d5, da nur 5 H-Atome deuteriert sind, Abbildung 8) und Benzoesäure-d5 (Abbildung 9) wurden durch Deuterierung, das heisst durch Ersetzen der Wasserstoffatome in den Molekülen durch Deuteriumsotope (Isotop von Wasserstoff), markiert (Mortimer & Müller, 2010).

Die beiden ISTD besitzen bezüglich Fettsäuren jedoch nur eine geringe Aussagekraft, da sie ursprünglich nicht für die Bestimmung von Fettsäuren entwickelt wurden. Bei der Analyse der Probe vom Tag 22 war die Empfindlichkeit gegenüber den beiden Standards noch etwa halb so hoch, wie zu Beginn der Messkampagne des Versuchs bei Tag 1. Dies bedeutet jedoch nicht, dass sich die Empfindlichkeit auch gegenüber den Fettsäuren halbiert hat. Da die Extraktionsmethode über die ganze Messkampagne gleich durchgeführt wurde, hat eine halbquantitative Bestimmung eine Gültigkeit. Starke Veränderungen der Signalflächen (Component Area) können deshalb für eine Interpretation und zur Abschätzung von Tendenzen durchaus verwendet werden.

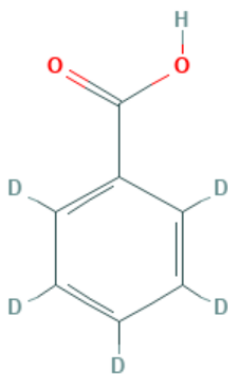


Abbildung 8: Strukturformel Benzoesäure-d5 (PubChem, 2019a)

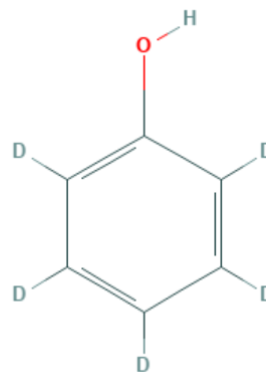


Abbildung 9: Strukturformel Phenol-d5 (PubChem, 2019b)

Mit den untersuchten Proben wurde zuerst eine Extraktion gemäss internen Methodenbeschreibung (im digitalen Anhang) durchgeführt, um die zu bestimmenden Inhaltsstoffe (Phenole, Fettsäuren, Ketone etc.) in eine Lösungsmittelphase zu überführen, damit sie im GC eingespritzt werden können. Die frischen Proben wurden sofort weiterverarbeitet und dem ISTD in den 50ml PP-Tubes



beigegeben. Bei Punkt 4.1 der SOP wurde auf eine vorgängige Zentrifugation verzichtet, da bei der Zentrifugation der Fettschlamm enthaltenen Mischungen mehrere nicht wieder vermischbare Phasen entstanden, die keine homogene Probenahme gewährleisteten. Ebenfalls wurden wegen der hohen Fettgehalte nur 1 g der Probe zirka genau eingewogen. Ab dem den Proben Tag 2 wurden diese Mengen bei allen Proben, die Fettschlamm enthalten (1-1-1, 1-2-1, 1-1-5, 1-2-5, 1-1-6, 1-2-6), auf 0.3 g reduziert. Bei Schritt 4.4 wurden die Proben jeweils 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Weiter wurden bei Schritt 4.10 die Proben beim Abfüllen in die Vials am Tag 1 im Verhältnis 1:2 mit Ethylacetat verdünnt. Ab Tag 2 wurde die Verdünnung ebenfalls angepasst und neu wurden alle fettschlammhaltigen Proben 1:9 mit Ethylacetat verdünnt und die restlichen Proben (1-1-2, 1-2-2, 1-1-3, 1-2-3, 1-1-4, 1-2-4) unverdünnt in die Vials abgefüllt. Übersicht der Mengen und Verdünnungen im Anhang D.

## Datenauswertung

Die generierten Daten aus der GC/MS-Analyse wurden von Alexander Treichler, wissenschaftliche Mitarbeiter der Fachstelle UBIOT, mit der Software Agilent MassHunter (Agilent, USA) aufbereitet und pro Reihe als zusammengefasstes Excel-File mit den einzelnen Chromatogrammen pro GC-Einspritzung (normalerweise zwei Einspritzungen pro Reihe und Probe) zur Verfügung gestellt. Ziel der Auswertung war die Erstellung von Grafiken, in denen alle regelmässig festgestellten Substanzen zusammengefasst dargestellt werden können, um Aussagen über die Entwicklung des Stoffabbaus machen zu können. Die Auswertung der Daten erfolgte mit Excel pro Reihe mit folgendem Ablauf:

### 1. Umrechnung der Probemengen und Verdünnungen auf eine Basis

Die verschiedenen Reihen wurden auf 1g Probemenge und unverdünnte Abfüllung in die Vials umgerechnet, damit die Werte miteinander verglichen werden können.

### 2. Mittelwerte der parallelen Einspritzungen

Die Mittelwerte von parallelen Einspritzungen der gleichen Reihe und gleichen Proben wurden gezogen, um alle Einspritzungen zu berücksichtigen. Zusätzlich wurden einzelne Substanzen umbenannt, die nach Erfahrung mit dieser GC/MS-Methode von der MassHunter Software als andere Substanzen ausgegeben werden:

2-Chloroethyl ► Benzoensäure

3-Methyl-4-Nitropyrazole ► Benzoensäure-d5

### 3. Entfernung von unregelmässigen Substanzen

Substanzen, welche nur unregelmässig und in geringen Mengen vorkommen, wurden aus der Auswertung entfernt. Auch Substanzen, die in der Auswertungssoftware nur einen geringen Trefferquote aufweisen oder deren Retentionszeit keinen Sinn ergibt, wurden nicht weiter berücksichtigt.

**Tabelle 11: Beispiele nicht berücksichtigte Substanzen GC/MS-Datenauswertung**

Sample	RT	Formel	Bezeichnung	Trefferquote	Fläche
1-1-1a	15.9592	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	Hexanoic acid, anhydride	85.7	75'984
1-2-1d	13.4009	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O	2-Isopropyl-5-methyl-1-heptanol	84.5	1'349'300

#### 4. Zusammenfassung der Substanzen

Die verschiedenen Substanzen wurden auf Grund ihrer Retentionszeit, die bei den langketigen Fettsäuren charakteristisch für ihre Anzahl C-Atome ist, zusammengefasst zu C18-, C16-, C14-, C12-, C10-, C8-, C5- und Phenylsäuren. Auch regelmässig gemessene Ketone, Phenole oder Indole werden zusammengefasst und in der Auswertung behalten, auch wenn sie nicht in der Grafik dargestellt werden. Verschiedene Vorgehensweisen beim Zusammenfassen der Substanzen in nicht eindeutigen Situationen werden im Anhang E erläutert.

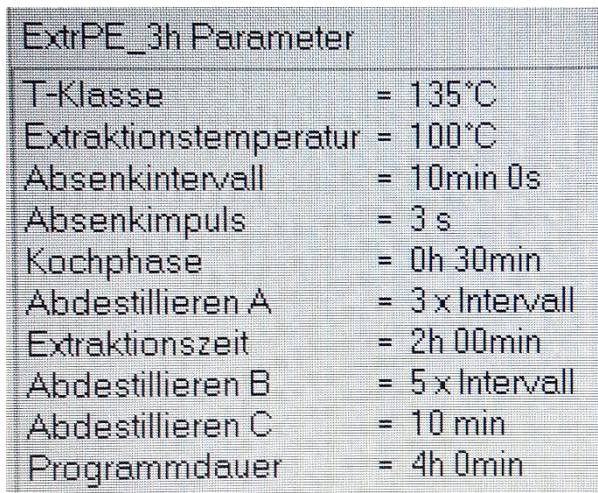
#### 5. Substanzen nach Proben sortieren

Die Substanzen der einzelnen Proben (1-1-1 etc.) wurden über die fünf Probeentnahmen zusammengefasst und in Graphiken im Kapitel 36 dargestellt.

### 3.7.5 Fettextraktion

Für einzelne Proben der beiden Hydrolyse-Versuche wurde eine Fettextraktion durchgeführt, um den Abbau des Fetts verfolgen zu können. Die Extraktion erfolgte mit der Lösung zur Gesamtfettbestimmung SOXTHERM der Firma C. Gerhardt GmbH & Co. KG aus Deutschland. Die quantitative Fettgehaltbestimmung erfolgt dabei voll automatisch in einem Schnell-Extraktionssystem, bei dem die Heissextraktion, das traditionelle Soxhlet-Verfahren und die Twisselmann-Methode kombiniert werden. (Gerhardt Analytical Systems, 2016)

Als Vorbereitung wurden die Proben nach dem Gefriertrocknen wieder eingefroren. Von den eingefrorenen Proben wurden 2-3 g auf der Analysenwaage in die Hülsen eingewogen, mit Glaswolle überdeckt und in die vorbereiteten Extraktionsbecher eingesetzt. In die Extraktionsbecher wurden vorher zwei Siedesteinen gelegt und die Tara der Becher mit der Analysenwaage gewogen. Als Lösungsmittel wurde 130ml Petrolether, welches vom Hersteller Gerhardt Analytical Systems für die Analyse des Fettgehalts in Lebensmittel empfohlen wird, in die Extraktionsbecher gefüllt (Gerhardt Analytical Systems, 2016). Die Extraktion wurde mit dem SOXTHERM-Manager via Laptop mit den Einstellungen in Abbildung 10 gesteuert. Mit der Rückwaage des extrahierten Fettes in den Extraktionsbechern wurde anschliessend der prozentuale Fettanteil in den einzelnen Proben berechnet.



ExtrPE_3h Parameter	
T-Klasse	= 135°C
Extraktionstemperatur	= 100°C
Absenintervall	= 10min 0s
Absenkimpuls	= 3 s
Kochphase	= 0h 30min
Abdestillieren A	= 3 x Intervall
Extraktionszeit	= 2h 00min
Abdestillieren B	= 5 x Intervall
Abdestillieren C	= 10 min
Programmdauer	= 4h 0min

**Abbildung 10: Einstellungen für die Extraktion im SOXTHERM-Manager**

Die Methodik für die Analysen der anaeroben semikontinuierlichen Hydrolyse wurden immer sofort durchgeführt. Bei der anaeroben Batch Hydrolyse wurde die Methodik leicht an den Ergebnissen des ersten Hydrolyseversuchs angepasst. Die Proben nach dem Gefriertrockner wurden zuerst sauber vermischt und homogenisiert, bevor sie in die Hülsen abgefüllt wurden, was die Ungenauigkeiten vermindern sollte.

## 4 Resultate

Im folgenden Kapitel werden die Resultate vorgestellt. Im schriftlichen oder digitalen Anhang sind alle Messresultate und genaue Mengendokumentationen im Detail hinterlegt.

### 4.1 Substrate

Für die Bestimmung des TS- und oTS-Gehalts mittels Brutschrank/Muffelofen wurde für die Co-Substrate Haco-Kaffee, die Kartoffelsuppe und die Schweinegülle eine Zweifach-Bestimmung und für den Fettschlamm eine Vierfach-Bestimmung durchgeführt. Im Moisture Analyzer wurde der Fettschlamm zweifach und im Gefriertrockner einfach bestimmt. In der Tabelle 12 sind jeweils die Mittelwerte (MW) und die Standardabweichung (SD) aufgeführt. Beim Gefriertrockner muss davon ausgegangen werden, dass die Proben nicht komplett trocken sind und die Werte deshalb zu hoch sind, was der Methodenvergleich beim Fettschlamm bestätigt.

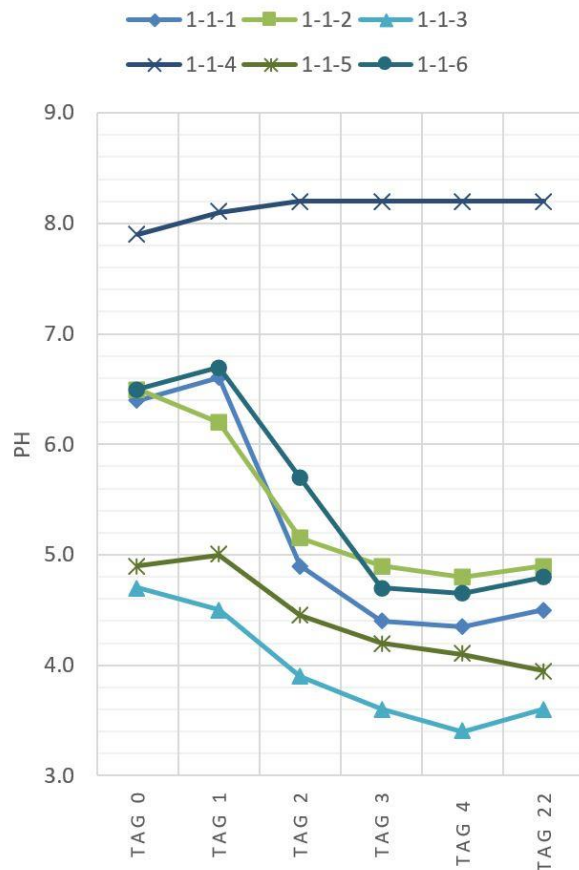
**Tabelle 12: Bestimmung des TS/oTS der Substrate. Angaben MW und SD der 4-fach und 2-fach Bestimmung (Berechnungen im digitalen Anhang)**

Substrat	Methode	Best.	TS [% FM]		oTS [% TS]		oTS [% FM]	
			MW	SD	MW	SD	MW	SD
Fettschlamm	Brutschrank/Muffelofen	4-fach	62.5	0.5	100.3	0.3	62.7	0.4
Fettschlamm	Moisture Analyzer	2-fach	67.6	0.9	-	-	-	-
Fettschlamm	Gefriertrockner	1-fach	77.3	-	-	-	-	-
Haco-Kaffeesatz	Brutschrank/Muffelofen	2-fach	26.6	0.8	99.4	0.8	26.5	0.8
Kartoffelsuppe	Brutschrank/Muffelofen	2-fach	6.0	0.2	93.8	0.8	5.6	0.1
Schweinegülle	Brutschrank/Muffelofen	2-fach	2.4	0.0	67.6	1.6	1.6	0.0

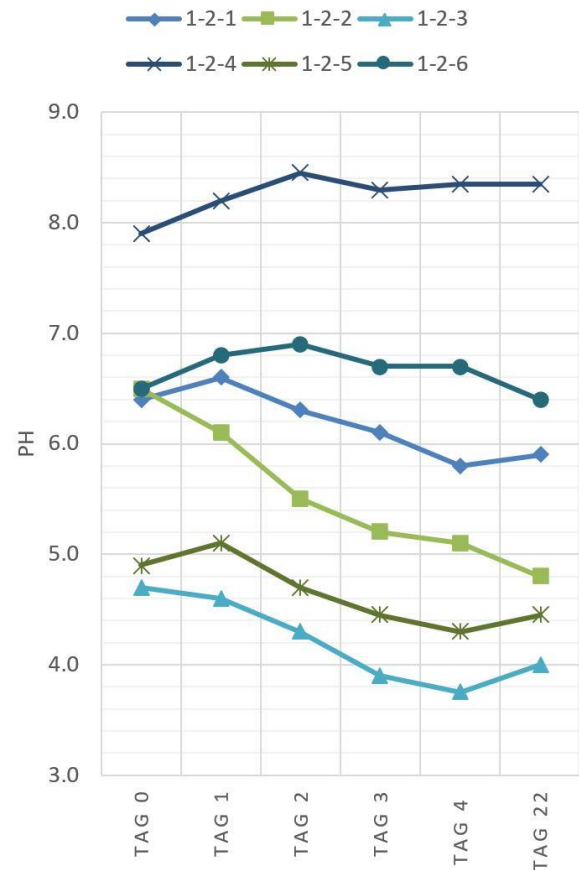
Die Messung des pH-Werts hat folgende Ergebnisse gebracht: Fettschlamm 4, Haco-Kaffeesatz 5.5, Kartoffelsuppe 3.8 und Schweinegülle 8.

### 4.2 Versuch 1 (anaerobe semikontinuierliche Hydrolyse)

Der pH-Verlauf der gleichen Substratmischungen unterscheidet sich bei den beiden untersuchten Temperaturen bei 42°C (Abbildung 11) und 55°C (Abbildung 12) je na Mischung. Es fällt auf, dass alle Proben bei 42°C einen tieferen pH-Wert aufweisen und dieser vorher absinkt. Besonders gross sind die Unterschiede bei den Mischungen, die Fettschlamm enthalten (1-1-1/1-2-1, 1-1-5/1-2-5, 1-1-6/1-2-6). Die tiefsten pH-Werte erreichen die Mischungen mit Kartoffelsuppe, bei der bereits das Reinsubstrat am sauersten ist (siehe Kapitel 4.1).



**Abbildung 11: Verlauf der pH-Werte bei 42°C (Daten im Anhang F)**



**Abbildung 12: Verlauf der pH-Werte bei 55°C (Daten im Anhang F)**

In der Abbildung 13 und der Abbildung 14 sind die Resultate der TS-Bestimmung mittels Gefrier-trocknen von den Probenahmen nach dem Ansetzen der Mischung am Tag 0 und jeweils vor dem Auswechseln von Tag1 bis 22 dargestellt. Wie bereits in der Methode angedeutet sind die TS-Bestimmung mit Gefrietrocknen zu hoch. Da die Methode im Verlauf der Versuchsreihe nicht verändert wurde, kann an den Resultaten dennoch eine Tendenz der TS-Gehalt-Entwicklung abgeleitet werden. Bei sämtlichen Mischungen mit Fettschlamm (1-1-1/1-2-1, 1-1-5/1-2-5, 1-1-6/1-2-6) steigt der TS deutlich an. Die anderen Proben lassen keinen Aufbau erkennen.

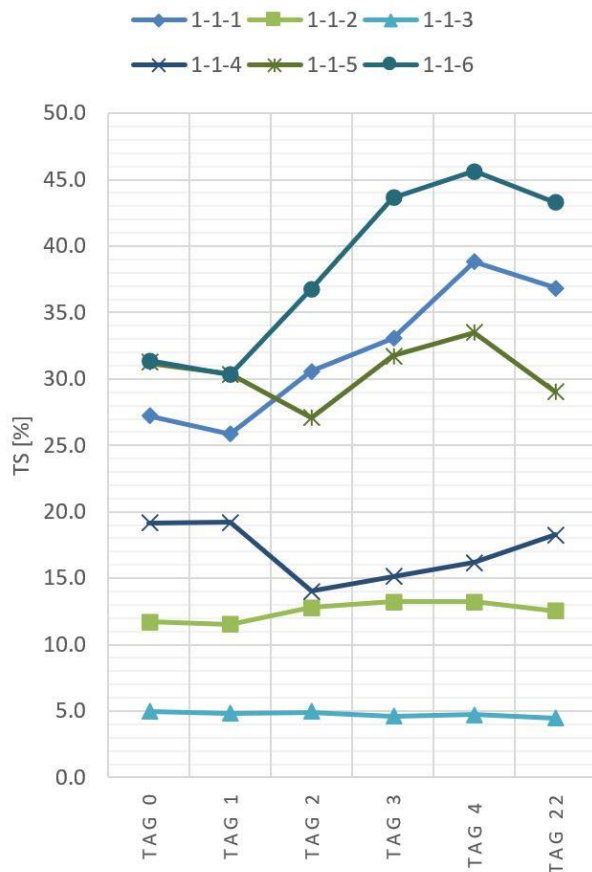


Abbildung 13: Verlauf der TS-Werte bei 42°C mittels Gefriertrocknen (Daten im Anhang F)

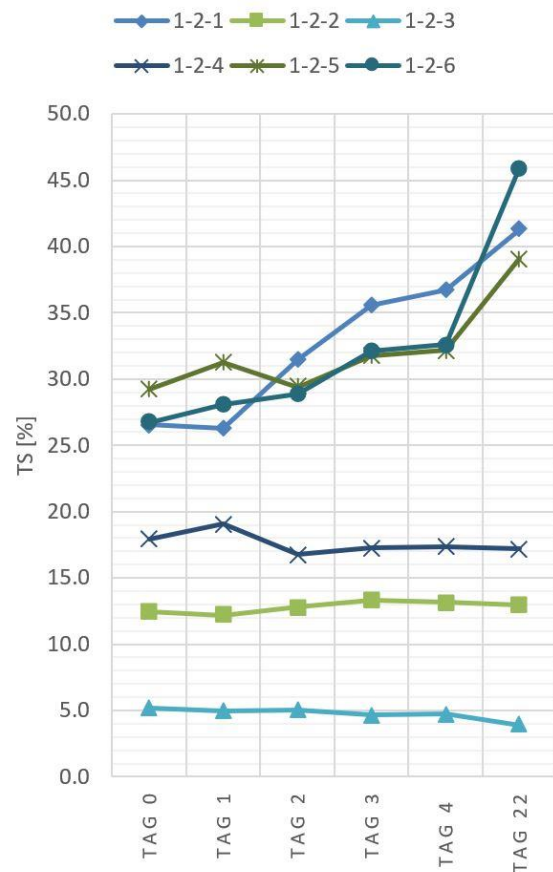


Abbildung 14: Verlauf der TS-Werte bei 55°C mittels Gefriertrocknen (Daten im Anhang F)

Da die Resultate der pH- und TS-Werte und die geringe Gasproduktion (nach 22 Tagen schätzungsweise nicht mehr als 500 ml Gas) vermuten lassen, dass nicht viel Material abgebaut werden konnte, wurde mit den fettschlammthaltigen Mischungen von der 42°C Reihe eine Gesamtfettbestimmung mittels Extraktion durchgeführt. Die in **Fehler! Ungültiger Eigenverweis auf Textmarke.** dargestellten Werte sind Mittelwerte (MW) und die Standardabweichung (SD) aus einer Doppelbestimmung der Gefriertrockneten Probe. Die Werte zeigen, dass die Fettgehalte im Versuchsverlauf stabil bleiben und auch nach 22 Tagen kein Fett abgebaut wurde.

Tabelle 13: Resultate der Gesamtfettbestimmung nach dem Gefriertrocknen der fettschlammhaltigen Mischungen der 42°C-Reihe. Die Angabe in % ist der Fettgehalt der untersuchten Probe in Bezug auf das Gesamtgewicht der extrahierten Probe. (Wert von 1-1-6 bei Tag 3 bedingt durch inhomogene Probennahme)

ID	Tag 1 [%]		Tag 2 [%]		Tag 3 [%]		Tag 4 [%]		Tag 22 [%]	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
1-1-1	83.6	0.7	82.3	2.2	87.7	1.4	87.6	0.7	86.9	0.8
1-1-5	81.7	0.7	81.3	5.9	79.3	0.5	84.6	0.9	80.7	2.5

---

1-1-6	81.8	0.8	82.0	0.1	37.7	1.4	80.0	12.4	82.2	2.4
-------	------	-----	------	-----	------	-----	------	------	------	-----

---

#### 4.2.1 GC/MS

Die Resultate der GC/MS Daten werden in einer Grafik pro Ansatz für die am häufigsten vorkommenden Substanzen (oder Substanzgruppen) pro Ansätze dargestellt. Substanzen, die nur vereinzelt in einem Ansatz vorkommen werden nicht in den Grafiken dargestellt. Sie sind in der Auswertung im digitalen Anhang markiert. Im Weiteren gibt es im digitalen Anhang eine Liste mit allen Substanzen, die im Verlauf der Auswertung nicht weiter berücksichtigt wurden. Ebenfalls nicht berücksichtigt in den Grafiken wurde die Propan- und Essigsäuren, da diese erst nach einer Methodenanpassung im Verlauf der Messkampagne im Tag 22 im Chromatogramm angezeigt wurden.    Signalfläche

In den Resultaten ist zu erkennen, dass die ISTD Phenol-d6 und d5-Benzoesäure an den Tagen 2, 3 und 4 bei den fettschlammhaltigen Proben stark von ihrer eigentlichen Signalfläche von rund 1'000'000 abweichen, die sie umgerechnet auf 1 g unverdünnte Probe eigentlich erreichen sollten. Die Grafiken sind für die gleichen Substratmischungen gleich Skaliert, um einen schnellen visuellen Vergleich zwischen den beiden Temperaturen zu ermöglichen. Bei den unterschiedlichen Substratmischungen sind sie absichtlich jeweils an die Signalflächengrösse angepasst.

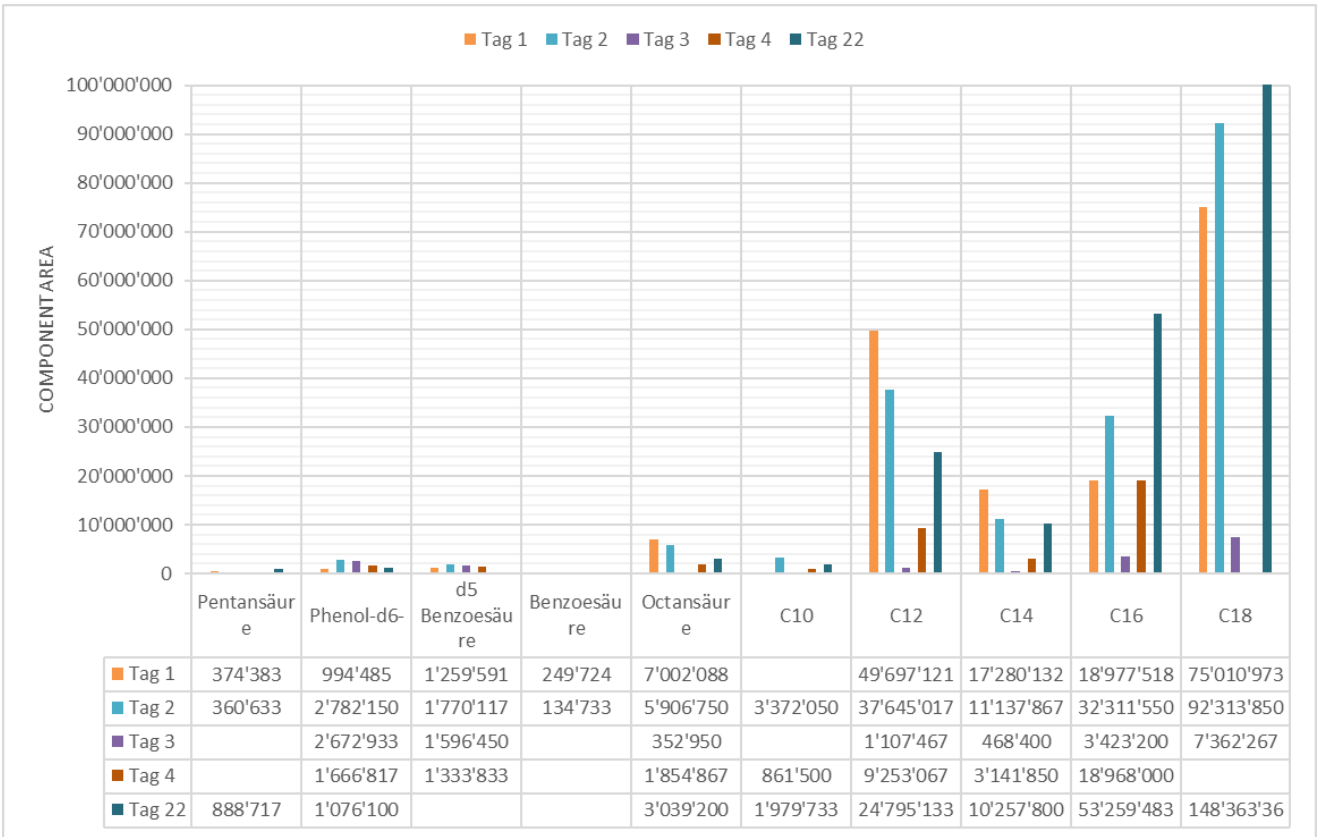


Abbildung 15: GC/MS 1-1-1 Fettschlamm 42°C

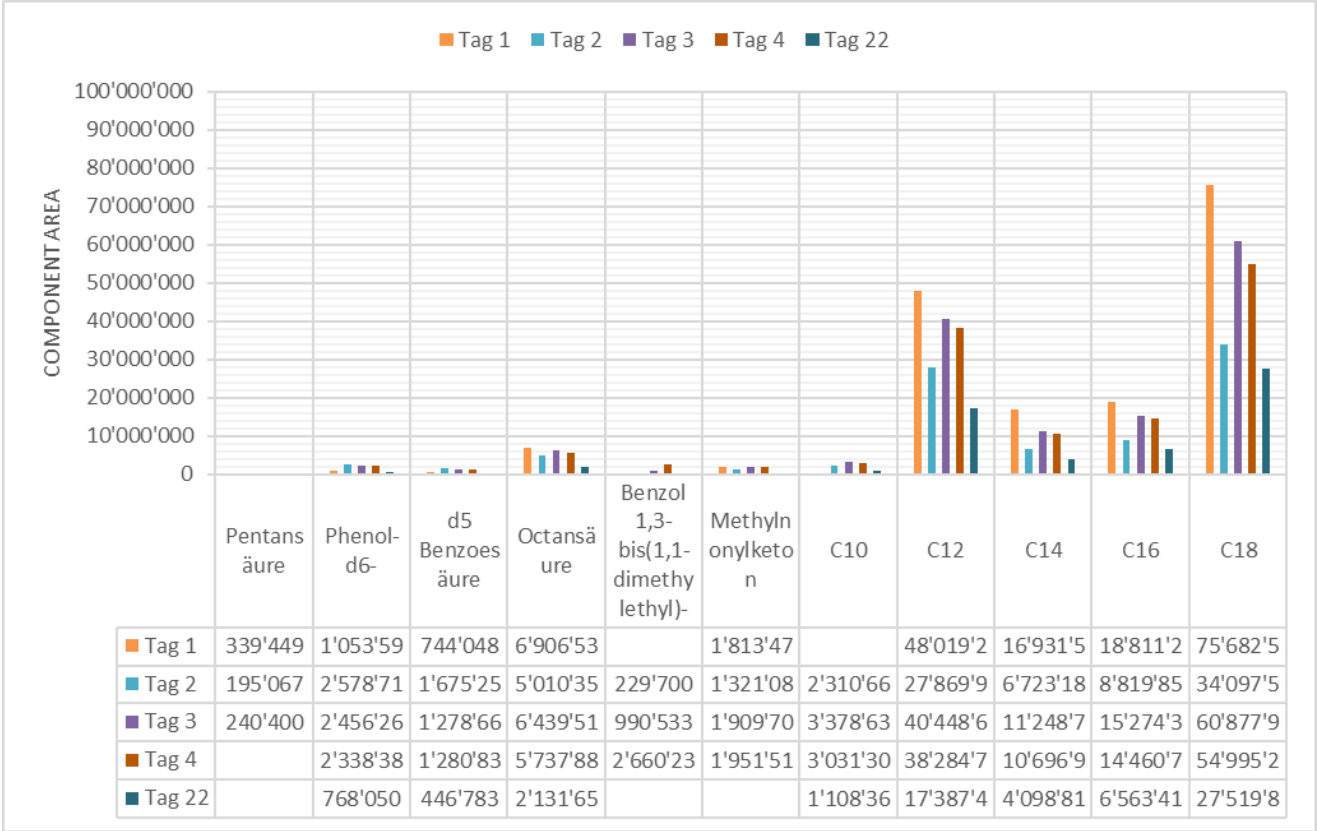


Abbildung 16: GC/MS 1-2-1 Fettschlamm 55°C



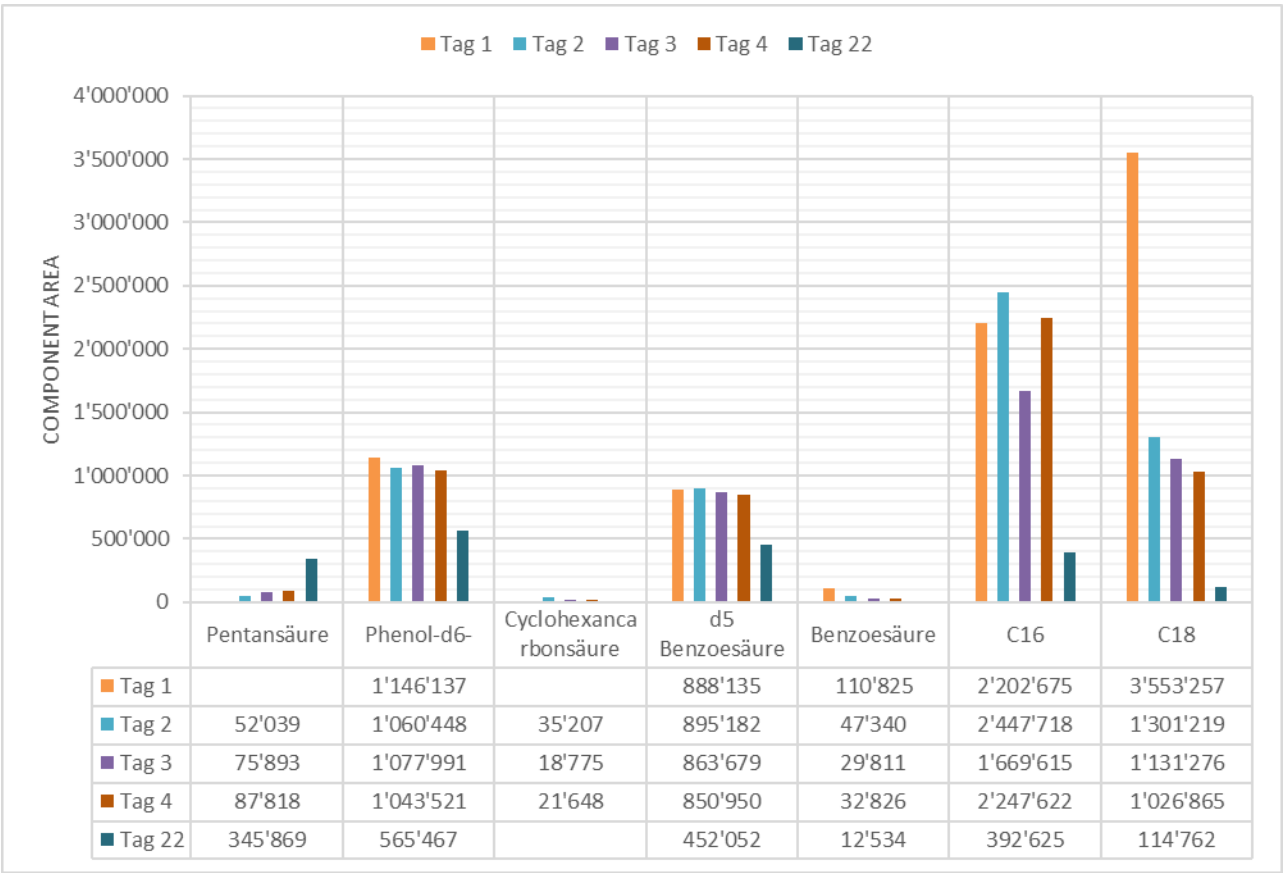


Abbildung 17: GC/MS 1-1-2 Haco-Kaffeesatz 42°C

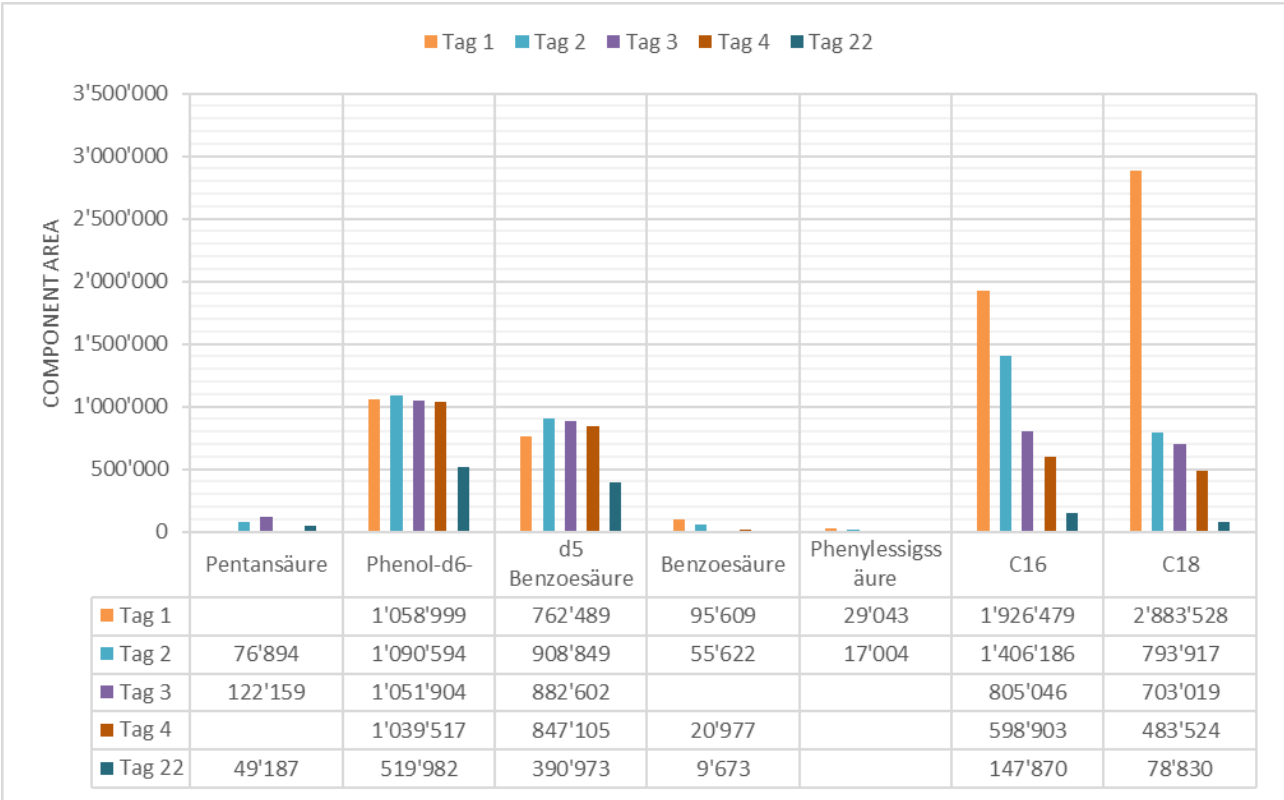


Abbildung 18 GC/MS: 1-2-2 Haco-Kaffeesatz 55°C

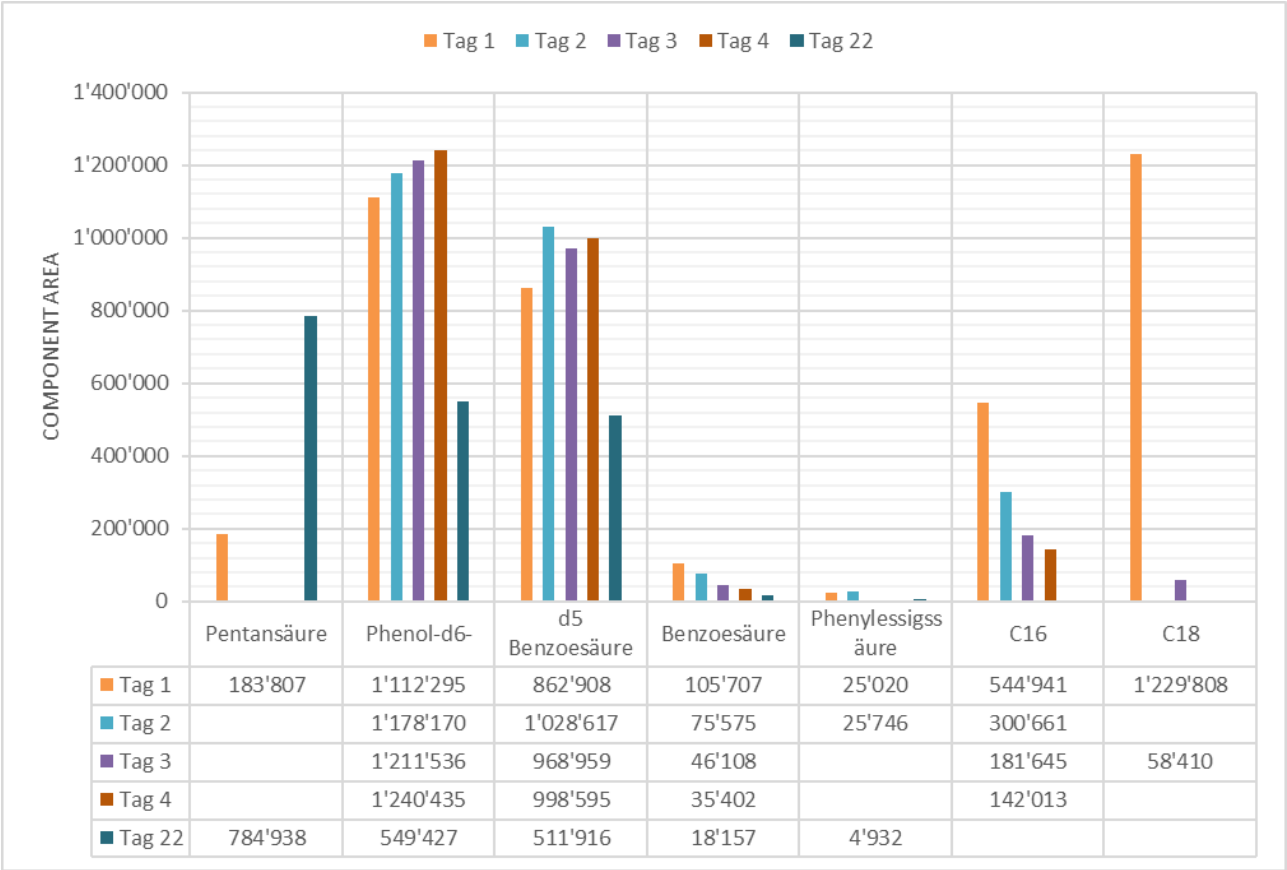


Abbildung 19: GC/MS 1-1-3 Kartoffelsuppe 42°C

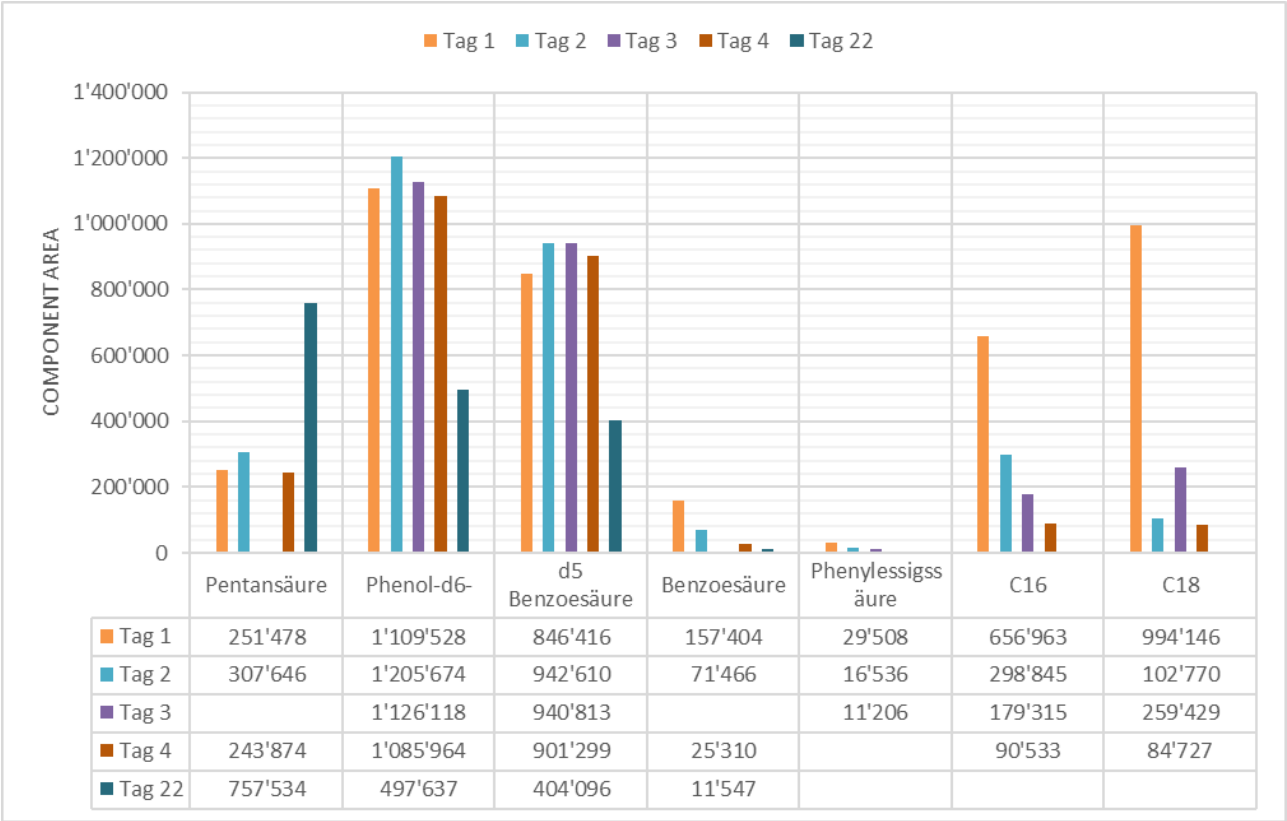


Abbildung 20 GC/MS: 1-2-3 Kartoffelsuppe 55°C

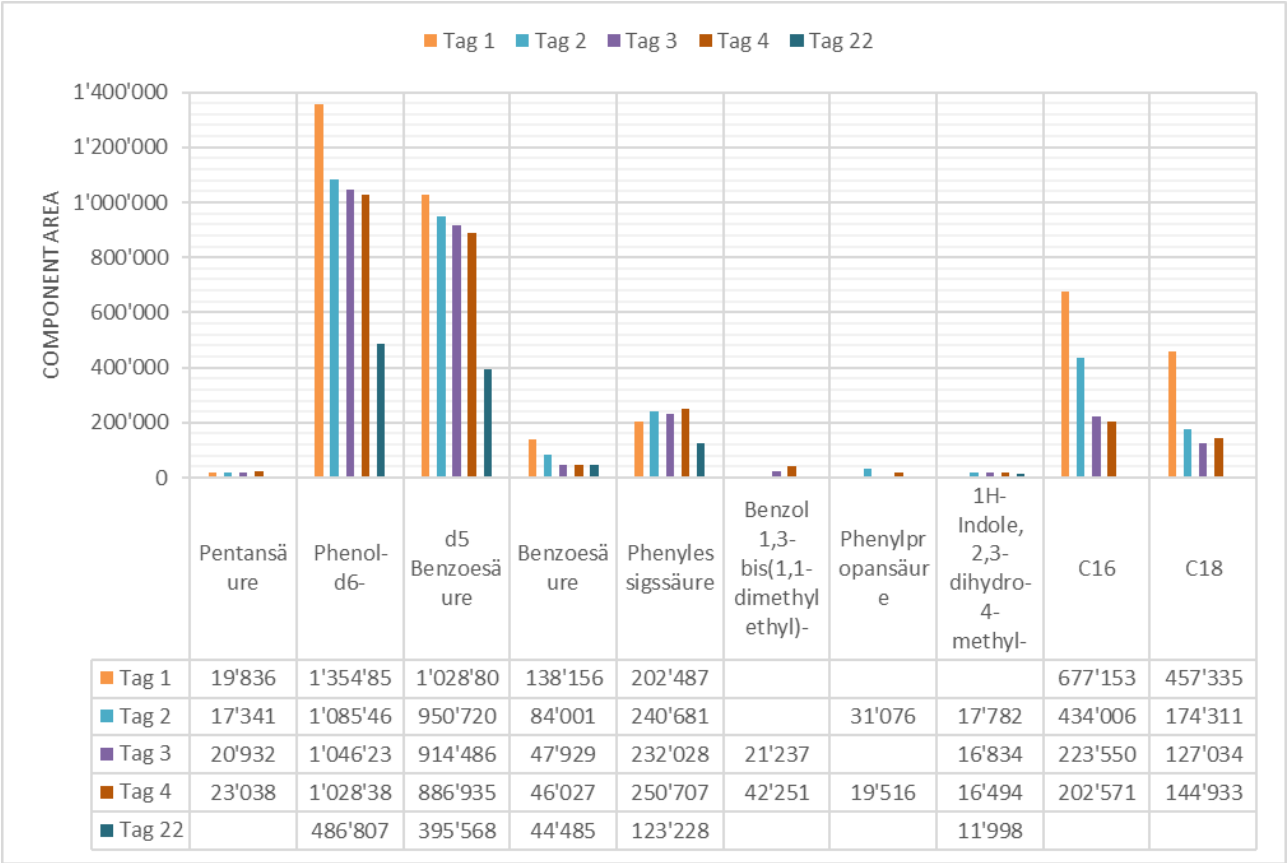


Abbildung 21: GC/MS 1-1-4 Schweinegülle 42°C

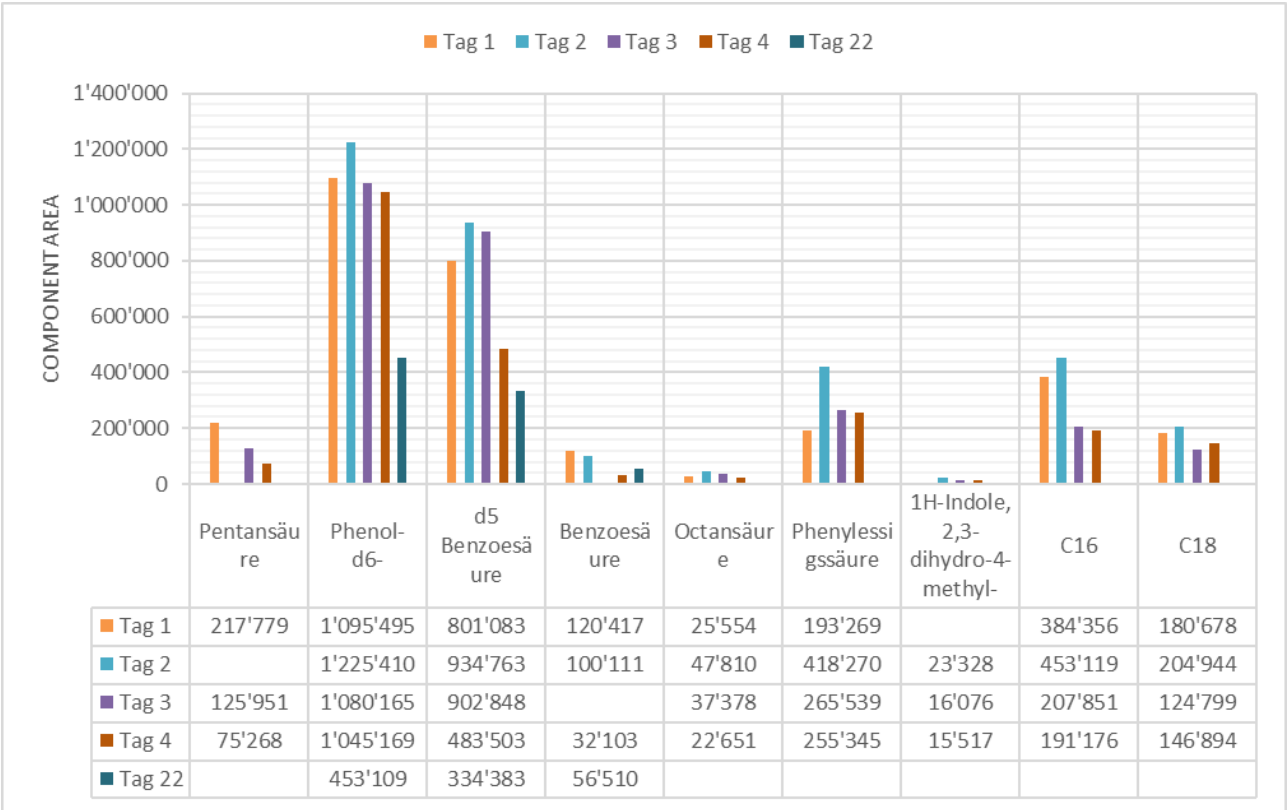


Abbildung 22 GC/MS: 1-2-4 Schweinegülle 55°C

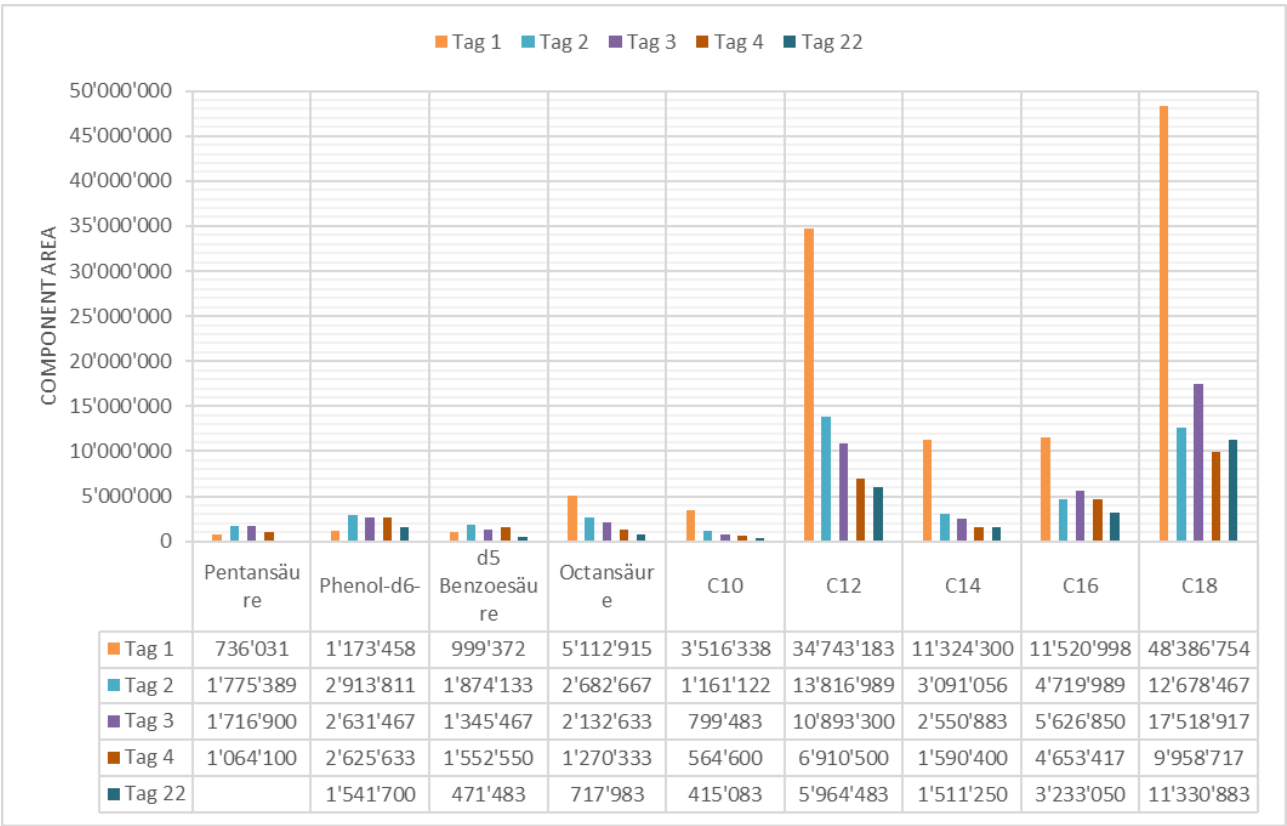


Abbildung 23: GC/MS 1-1-5 Fettschlamm & Kartoffelsuppe 42°C

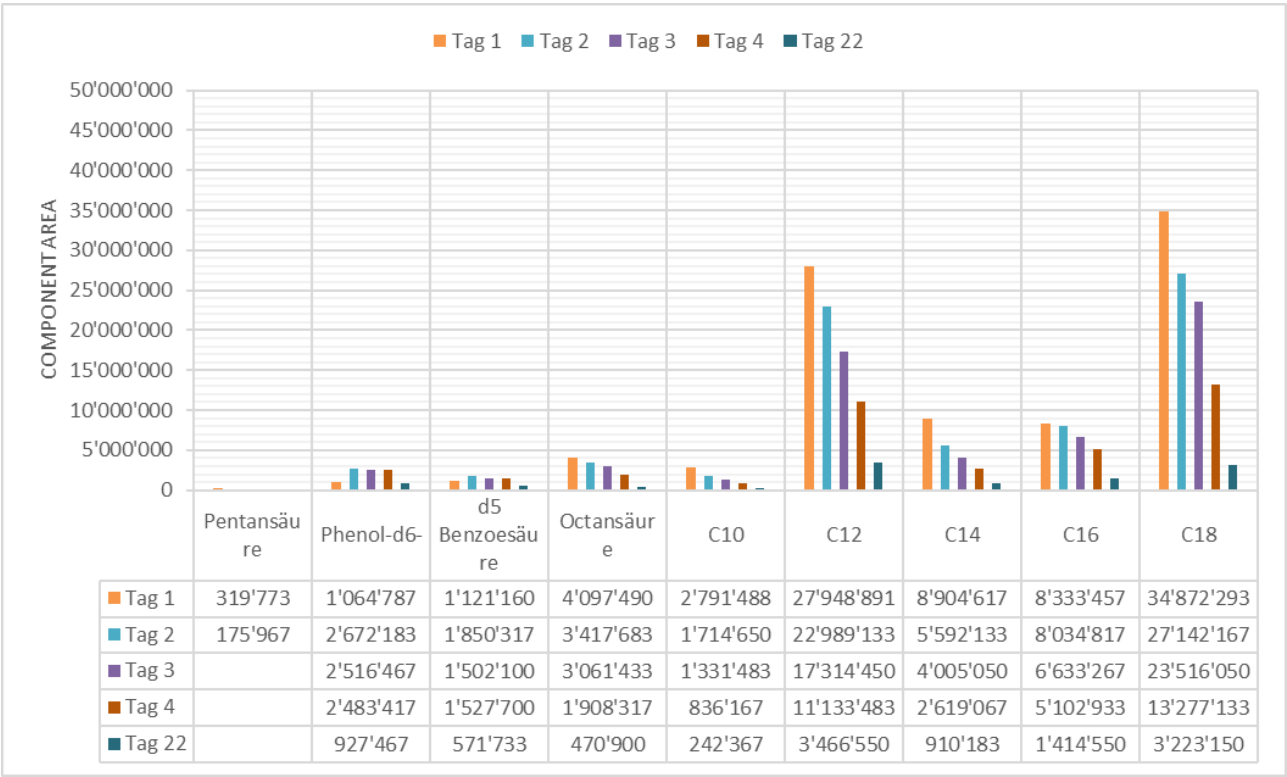


Abbildung 24 GC/MS: 1-2-5 Fettschlamm & Kartoffelsuppe 55°C

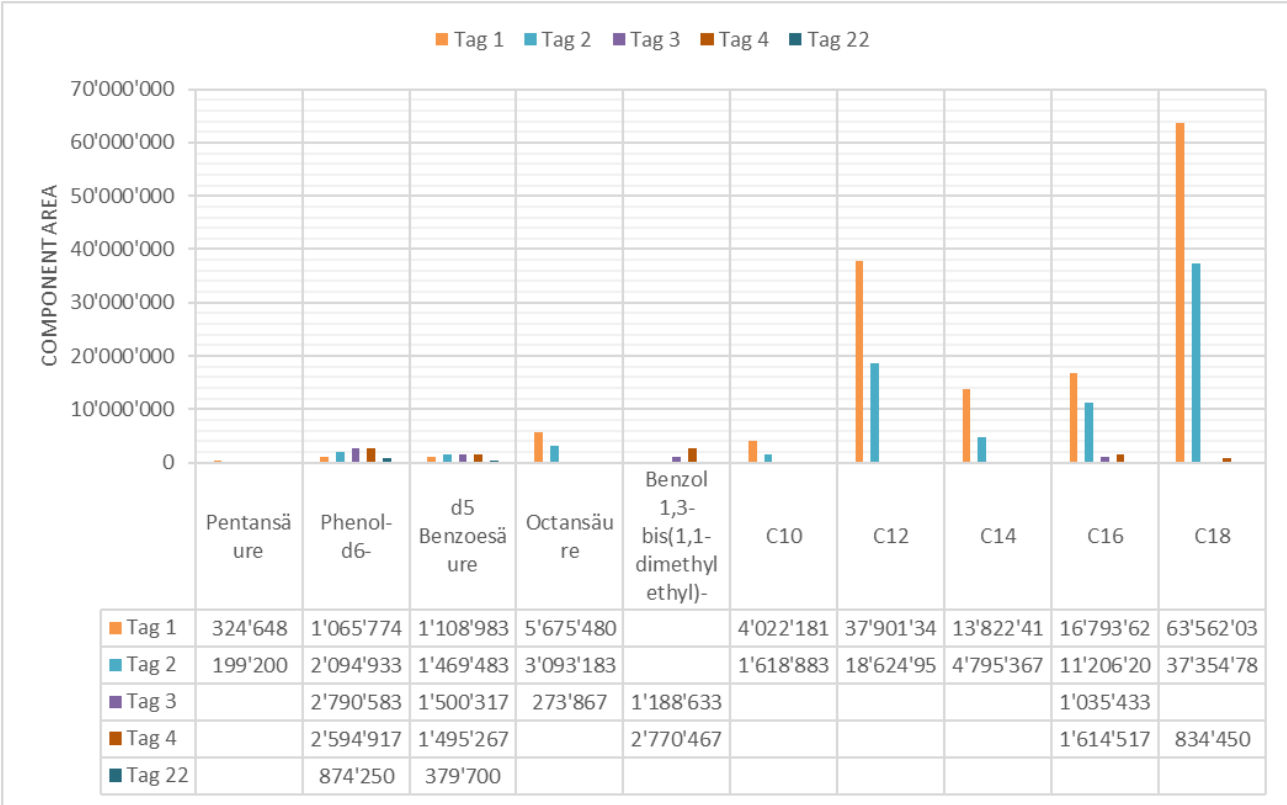


Abbildung 25: GC/MS 1-1-6 Fettschlamm & Schweinegülle 42°C

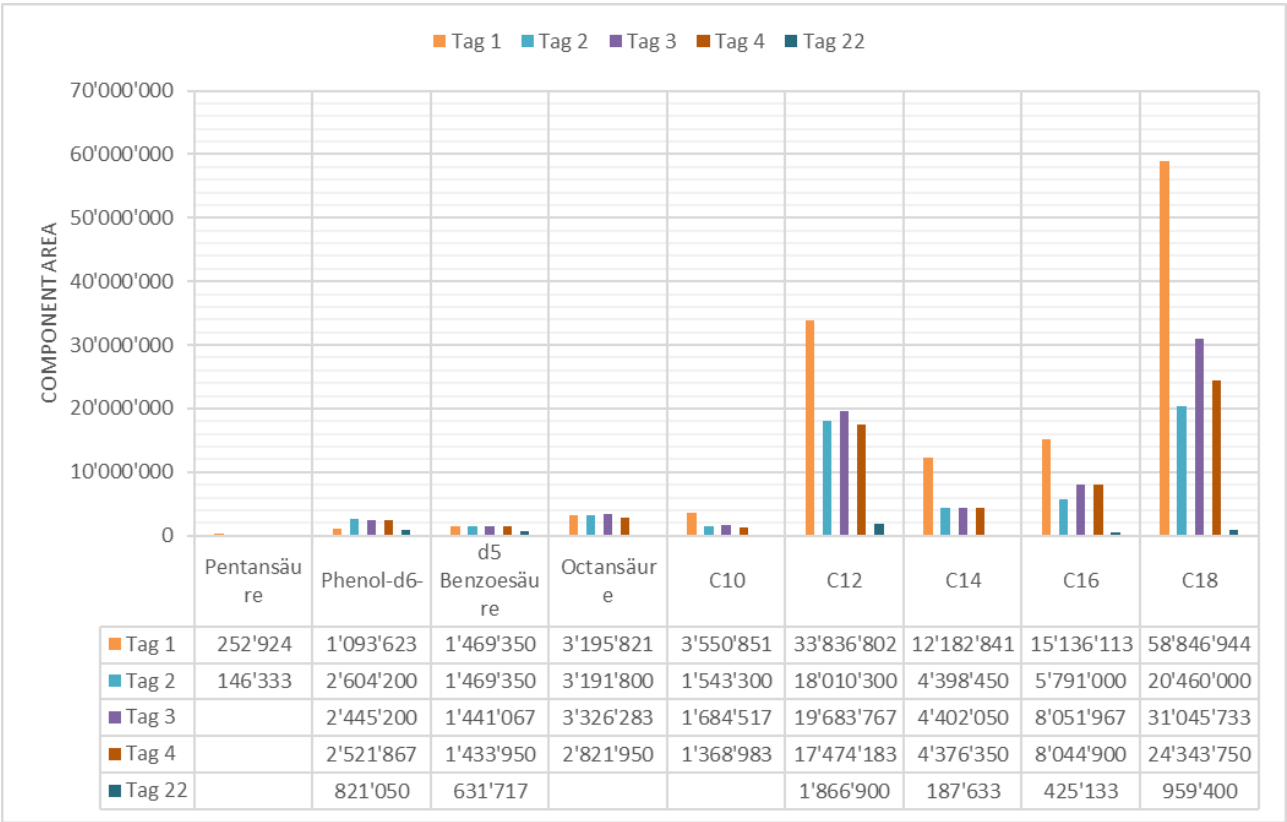


Abbildung 26 GC/MS: 1-2-6 Fettschlamm & Schweinegülle 55°C

### 4.3 Versuch 2 (anaerobe Batch-Hydrolyse)

Die pH-Werte in Tabelle 14 der nicht eingestellten Ansätze «Inok x»-u, «Inok y» und «Inok z» zeigen abgesehen vom «Inok x»-u keine Veränderungen. Mit einem Unterschied von 0.25 ist der Unterschied klein. Die Ansätze blieben im Verlauf des Versuchs stabil.

**Tabelle 14: pH-Werte der 5 Mischungen bei Start und Ende des Versuchs. Bei «Inok x» 9 und «Inok x» 5.5 wurde der pH-Wert eingestellt und nach 2d kontrolliert und wieder angepasst. Inok y = Kronauer, Inok z = Rietliau.**

	«Inok x» 9	«Inok x»-u	«Inok x» 5.5	«Inok y»	«Inok z»
Start Batch [pH]	9.0	8.1	5.5	7.65	7.2
nach 2 d	8.7 (-> 9.0)	-	5.5	-	-
Ende Batch (5 d) [pH]	9.0	7.85	5.6	7.65	7.2

Die Gesamtfettbestimmung der gefriergetrockneten Proben konnte auf Grund von zu wenig Material, (2-3 Gramm) nur 1-fach bestimmt werden. Die Auswertung in Tabelle 15 zeigt, dass der Fettanteil der eingewogenen Probe zwischen Start und Ende bei den drei Ansätzen mit dem «Inok x» sich nicht entscheidend veränderte. Die verschiedenen pH-Werte hatten dabei keinen Einfluss. Die geringen Unterschiede müssen als Methodenfehler betrachtet werden. Die Unterschiede der Ansätze «Inok y» und «Inok z» zeigen eine Tendenz des Fettabbaus.

**Tabelle 15: Resultate der Gesamtfettbestimmung nach dem Gefriertrocknen. Angaben in %, bezogen auf das Gesamtgewicht der extrahierten Probe.**

	«Inok x» 9	«Inok x»-u	«Inok x» 5.5	«Inok y»	«Inok z»
Start Batch [%]	8.7	9.6	7.6	7.4	19.85
Ende Batch (5 d) [%]	7.6	9.0	9.3	1.3	5.7

In Tabelle 16 sind die Veränderungen des TS-Gehalts innerhalb des 5 Tage dauernden Versuches aufgeführt. Ausser beim Ansatz «Inok z» können keine Unterschiede festgestellt werden.

**Tabelle 16: TS-Bestimmung der fünf Mischungen im Gefriertrockner. Angaben MW und SD von einer Doppelbestimmung. (Berechnungen im digitalen Anhang)**

	«Inok x» 9	«Inok x»-u	«Inok x» 5.5	«Inok y»	«Inok z»
Start Batch TS [% FM]	7.3	9.1	9.0	4.9	5.5
Ende Batch (5 d) TS [% FM]	7.3	8.8	8.5	4.4	2.7

#### 4.4 Versuch 3 (BMP-Matrix)

Der Tabelle 17 zeigt die Gasbildungen und spezifischen Methanpotentiale nach 472 h Versuchsdauer, bevor gemäss Methodenbeschrieb einzelne Versuche gestoppt werden musste.

**Tabelle 17: Vergleich AMPTS-Gasbildung Methan nach 473 h (20 d) Versuchsdauer.**

<b>Ansätze</b>	<b>Gasbildung Brutto 473 h</b>	<b>Gasbildung Netto 473 h (Inok abgez.)</b>	<b>oTS Substrat (bei 1,2,3 oTS der Inok's)</b>	<b>spez. Gasbil- dung 473 h</b>	<b>Standardab- weichung SD (spez. Gasbil.)</b>
	[ Nml ]	[ Nml ]	[ g ]	[ NI / kg oTS ]	[ NI / kg oTS ]
1 «Inok x»	1167.4	1167.4	19.684	59.3	± 1.86
2 Inok «Inok y»	1345.1	1345.1	16.581	81.1	± 1.33
3 Inok «Inok z»	150.6	150.6	5.471	27.5	± 3.22
4 Standard (Std.)	2371.3	1203.9	2.503	479.8	± 216.19
5 Std. Temp.Höher	3122.7	1955.3	2.571	760.6	± 75.55
6 Std. c=tief	2235.2	1067.8	1.319	805.3	± 138.68
7 Std. c=real	165.5	-1001.9	43.663	-22.9	± 1.26
8 Std. c=hoch	1616.6	449.2	6.179	73.9	± 18.49
11 Std. «Inok y»	3588.5	2243.4	2.600	863.8	± 54.45
12 Std. «Inok z»	3386.6	3236.1	3.283	983.7	± 51.02
13 Std. Fett aufgeschl.	2177.2	1009.8	1.396	682.2	± 71.95
14 Std. Fett aufgeschl. c=tief	1461.7	294.3	0.727	404.8	± 196.67

Der Tabelle 17 zeigt die Gasbildungen und spezifischen Methanpotentiale nach 750 h Versuchsdauer, bevor gemäss Methodenbeschrieb die Resultate nicht mehr repräsentativ sind.

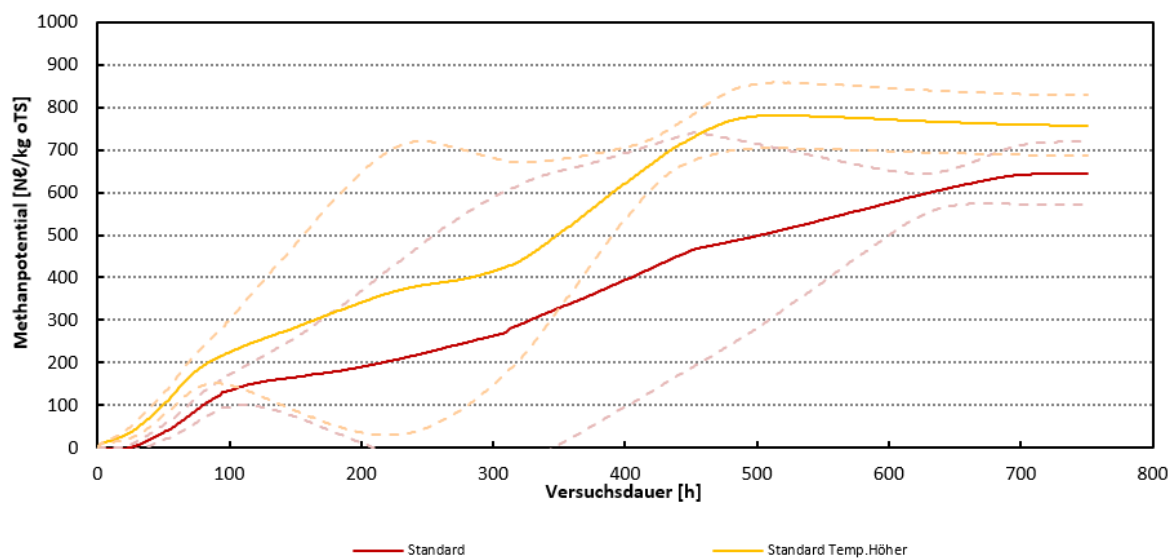
**Tabelle 18: Vergleich AMPTS-Gasbildung Methan nach 750 h (31 d) Versuchsdauer.**

<b>Ansätze</b>	<b>Gasbildung Brutto 750 h</b>	<b>Gasbildung Netto 750 h (Inok abgez.)</b>	<b>oTS Substrat (bei 1,2,3 oTS der Inok's)</b>	<b>spez. Gasbil- dung 750 h</b>	<b>Standardab- weichung SD (spez. Gasbil.)</b>
	[ Nml ]	[ Nml ]	[ g ]	[ NI / kg oTS ]	[ NI / kg oTS ]
1 «Inok x»	1277.9	1277.9	19.684	64.9	± 2.51
2 Inok «Inok y»	1461.5	1461.5	16.581	88.1	± 2.14
3 Inok «Inok z»	152.5	152.5	5.471	27.9	± 3.58
4 Standard (Std.)	2892.7	1614.8	2.503	645.5	± 74.30
5 Std. Temp.Höher	3228.2	1950.3	2.571	757.6	± 71.30
6 Std. c=tief	2346.0	1068.1	1.319	805.9	± 130.05

7 Std. c=real	171.3	-1106.6	43.663	-25.3	± 1.09
8 Std. c=hoch	2608.5	1330.6	6.179	221.6	± 132.97
12 Std. «Inok z»	1378.7	3272.9	2.542	994.4	± 51.77
13 Std. Fett aufgeschl.	2345.5	1067.5	1.396	787.4	± 31.72
14 Std. Fett aufgeschl. c=tief	1640.4	362.5	0.727	499.2	± 332.80

Für einen Vergleich von verschiedenen Ansätzen wird der Mittelwert der spezifischen Methanbildung [NI/kg oTS] und dessen SD verwendet. Da der Mittelwert nur aus einer Probenmenge von drei Proben besteht, wird für die Feststellung eines signifikanten Unterschieds die SD der verglichenen Ansätze verwendet und keine statistischen Tests durchgeführt. Überschneiden sich die Werte auch mit Einbezug der SD nicht, wird der Unterschied als signifikant bezeichnet. Die SD sind in den folgenden Grafiken visuell als strichlierte Linien abgebildet.

Der Vergleich der beiden unterschiedlichen Temperaturen in Abbildung 27 zeigt tendenziell eine höhere Methanausbeute für die Prozesstemperatur von 42°C, jedoch ist der Unterschied nicht signifikant. Das gesamte Methanpotential wird bei der höheren Temperatur ebenfalls schneller erreicht. Die Kurvenverläufe haben eine diauxische Form, was bedeutet, dass der Abbau stufenartig verlief. Dies ist vermutlich auf einen und gehemmten Abbau zurückzuführen, was typisch ist für schwerabbaubare Stoffe wie Fette (VDI, 2006).

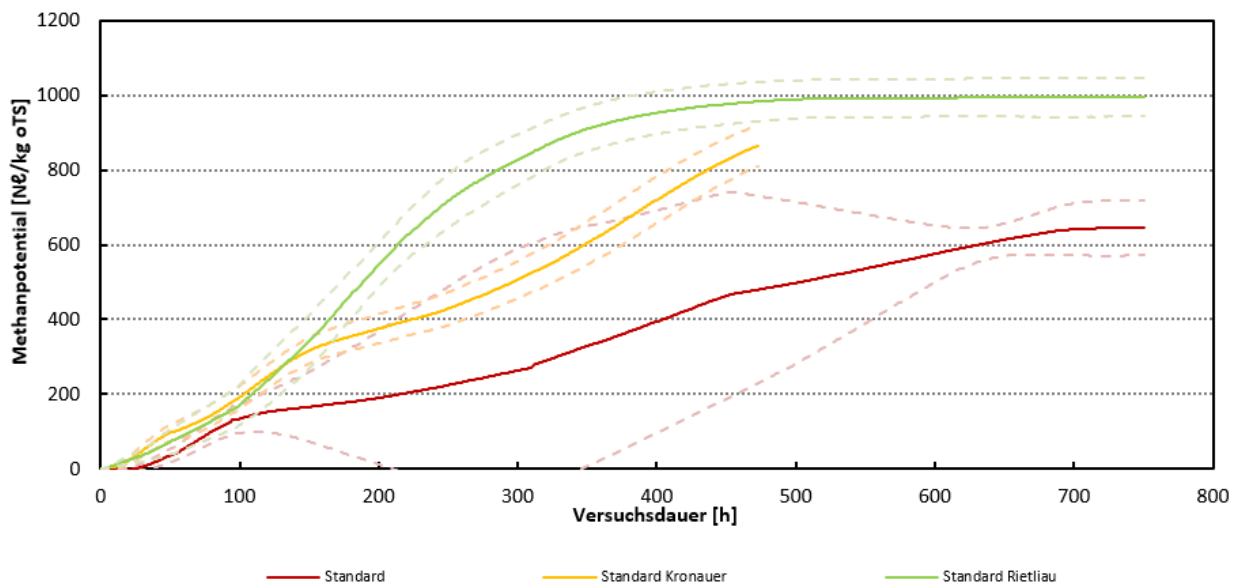


**Abbildung 27: Vergleich des Methanpotentials [NI/kg oTS] des Fettschlammes bei zwei unterschiedliche Temperaturen (37°C, 42°C)**

Der Vergleich der verschiedenen Inokulua zeigt, dass der Standard-Ansatz den Fettschlamm weniger gut abbaut, als «Inok y» und «Inok z». Zum Zeitpunkt, als der Ansatz Std. «Inok y» abgebrochen wurde (473 h), war der Unterschied von «Inok z» und «Inok y» ebenfalls noch signifikant. Es ist



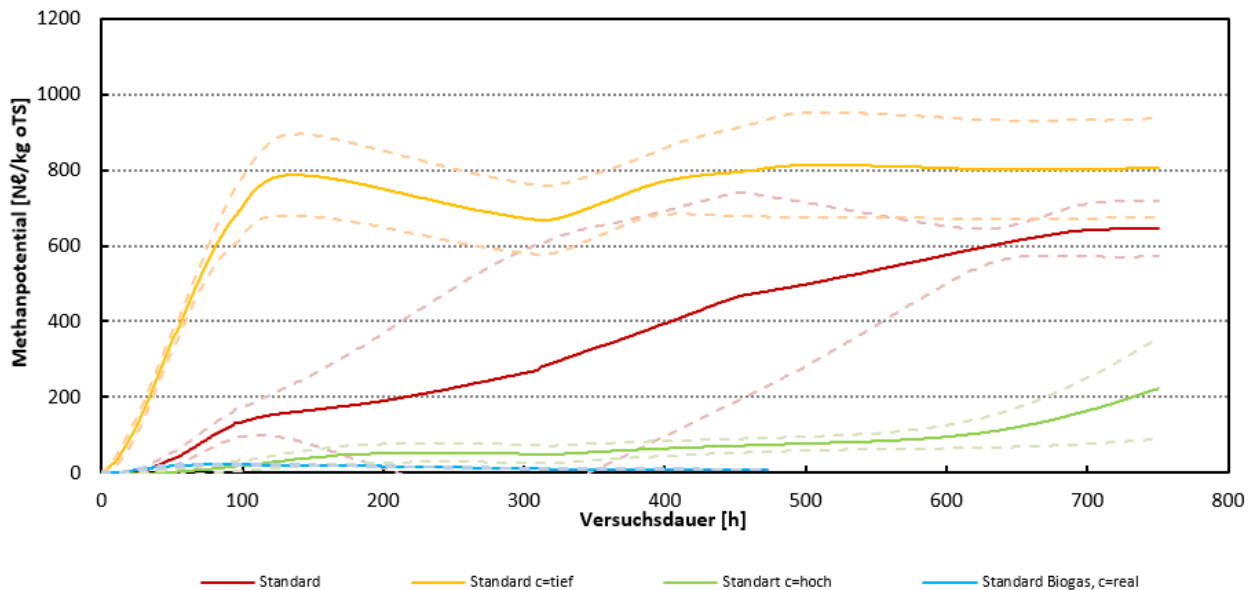
jedoch anzunehmen, dass sich die Kurve Standard «Inok y» der Kurve Standard «Inok z» noch nähert. Der Standard Inko z zeigt als einzige Kurve einen normalen Verlauf.



**Abbildung 28: Vergleich des Methanpotentials [Nl/kg oTS] des Fettschlammes in den drei verschiedenen Inokula (Standard Kronauer = Standard «Inok y» & Standard Rietliu = «Inok z»)**

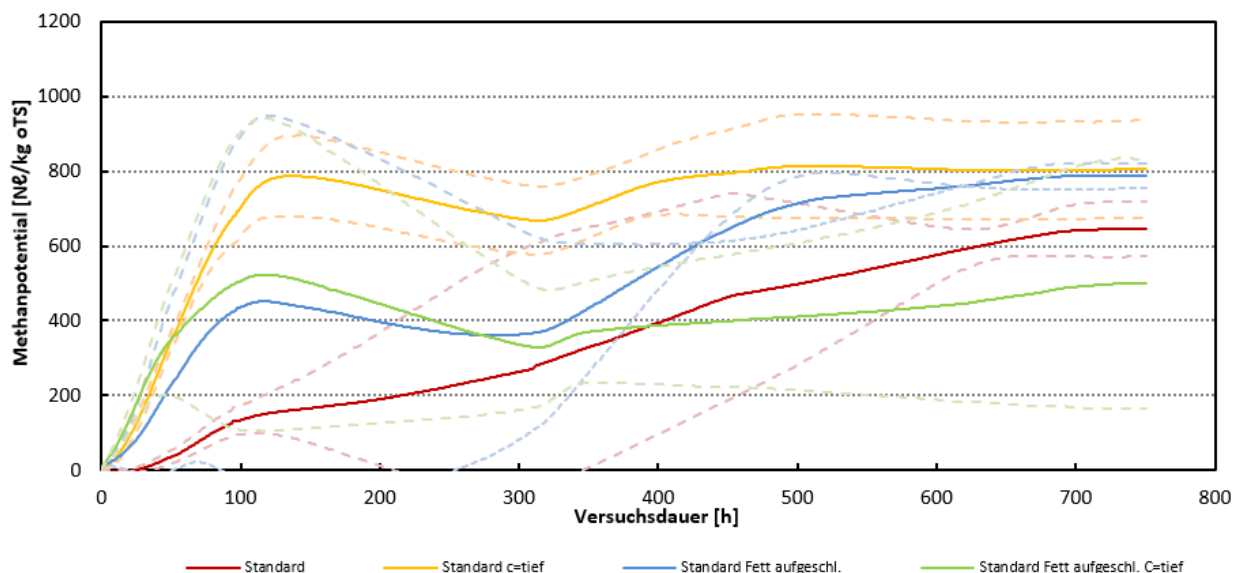
Die Methanproduktion des Ansatzes mit der realen Fettschlammkonzentration ist so gering, dass es in der Grafik der Abbildung 29 fast nicht sichtbar ist und eine klare Hemmung aufweist. Der Standard c=hoch war der Ansatz, der bis in die Gaswippen überlief, als die Methanproduktion nach etwa 600 h stark zunehmend war. Die Unterschiede zwischen dem Standard und dem Standard c=tief sind nach 750 h im Gegensatz zum Standard c=hoch nicht signifikant.

Eine negative Steigung der Kurven, wie sie in Abbildung 29 und Abbildung 30 zu sehen ist, bedeutet dass die Gasbildung des Ansatzes tiefer ist, als die Gasbildung der Nullprobe (VDI, 2006).

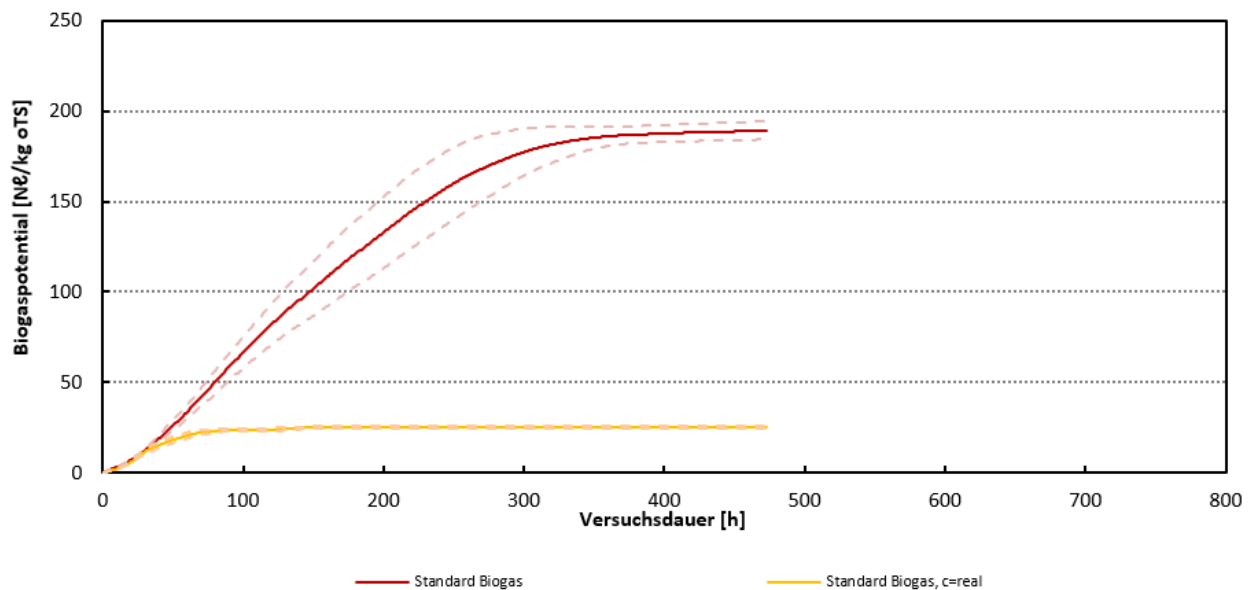


**Abbildung 29: Vergleich des Methanpotentials [Nl/kg oTS] bei verschiedenen Fettschlamm-Konzentrationen nach 750 h**

Die aus dem Fettschlamm hydrolysierten Fettsäuren zeigen bei der Standardkonzentration ein signifikant höhere Methanproduktion, als der reine Fettschlamm. Bei einer tieferen Konzentration ist tendenziell das Gegenteil der Fall. Alle Ansätze erfahren jedoch nach rund 120h eine Hemmung des Prozesses.



**Abbildung 30: Vergleich des Methanpotentials [Nl/kg oTS] von Fettschlamm und reinen Fettsäuren (hydrolysiert aus dem Fettschlamm)**



**Abbildung 31: Vergleich des Biogaspotentials [Nl/kg oTS] von Fettschlamm mit dem Inokulum bei verschiedenen Konzentrationen**

Die Abbildung 31 zeigt die beiden Ansätze, bei denen nicht das Methan-, sondern das Biogaspotential gemessen wurde. Da keine Blindwerte mit Biogas gemessen wurden, kann das Biogaspotential nur auf die gesamte Mischung (oTS des Fettschlammes und des Inokula) berechnet und dargestellt werden. Die Bruttogasbildung betrug beim Std. Biogas 4155 Nml und beim Std. Biogas c=real 1539 Nml. Die daraus berechnete spezifische Biogasbildung ist für den Std. Biogas mit 189 Nl/kg oTS etwa 8mal höher als der Wert Std.Biogas c=real mit 25.4 Nl/kg oTS. Die Gasbestandteile des gemessenen Biogases sind für die verschiedenen Messzeiten in der Tabelle 19 aufgeführt.

**Tabelle 19: Biogaszusammensetzung der Ansätze 9 und 10e**

Bezeichnung	Tage nach Versuchsstart	CH <sub>4</sub> [%]	CO <sub>2</sub> [%]	O <sub>2</sub> [%]
9 Std Biogas	5 (120 h)	70	22	0.7
	20 (473 h)	74	12.2	1.8
10 Std. Biogas, c=real	11 (264 h)	48	28	1.4
	20 (473 h)	0.9	80	2.2

Nimmt man die Bruttobiogasbildung des Ansatzes 9 von 4155 Nml und multipliziert diesen mit dem Mittelwert des Methananteils von 72%, erhält man 2992 Nml Methan. Verglichen mit der Bruttogasbildung Ansatz 4 nach 473 h (2371 Nml Methan) ergibt das einen Unterschied von 621 Nml, der Ansatz 4 tiefer ist.

#### 4.5 Restgaspotential der bestehenden Anlagenkonfiguration

Der Vergleich der Anlagenkomponenten Fermenter Gross, Fermenter Klein und Lager Silo ist in der Abbildung 32 abgebildet. Das Lager Silo zeigt eine Kurve, die nahe am Normalverlauf liegt. Die Fermenter hingegen bilden eine Kurve, die an einen verzögerten Abbau erinnert. Die genauen Werte können der Tabelle 20 entnommen werden.

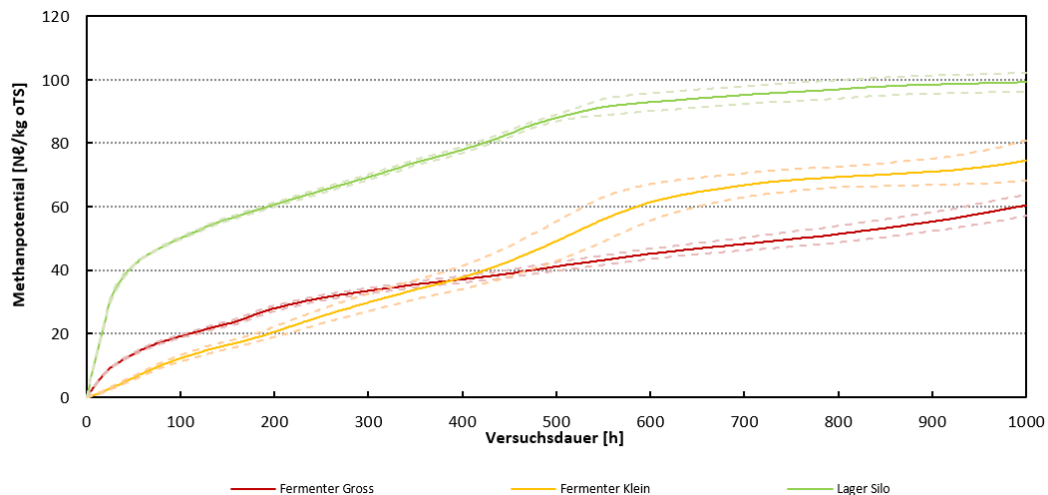


Abbildung 32: Vergleich des spezifischen Methanpotentials [Nl/kg oTS] der bestehenden Anlagenkonfiguration mit Fermenter Gross, Fermenter Klein und Lager Silo

Tabelle 20: Vergleich AMPTS-Gasbildung Methan nach 1000 h Versuchsdauer.

Ansätze	Gasbildung Brutto 473 h	Gasbildung Netto 1000 h	oTS Substrat	spez. Gasbil- dung 1000 h	Standardab- weichung SD
	[ Nml ]	[ Nml ]	[ g ]	[ Nl / kg oTS ]	[ Nl / kg oTS ]
Fermenter Gross	1354	1354	22.415	60.4	± 3.3
Fermenter Klein	1248	1248	16.750	74.5	± 6.4
Lager Silo	1071	1071	10.798	99.2	± 3.0

Die Grafik in Abbildung 33 zeigt die GC/MS-Analyse für das Restgaspotential für die beiden Fermentern und das Lager Silo. Trotz dem grossen Anteil von Fettschlamm in der Fütterung der Biogasanlage sind keine LCFA festgestellt worden.

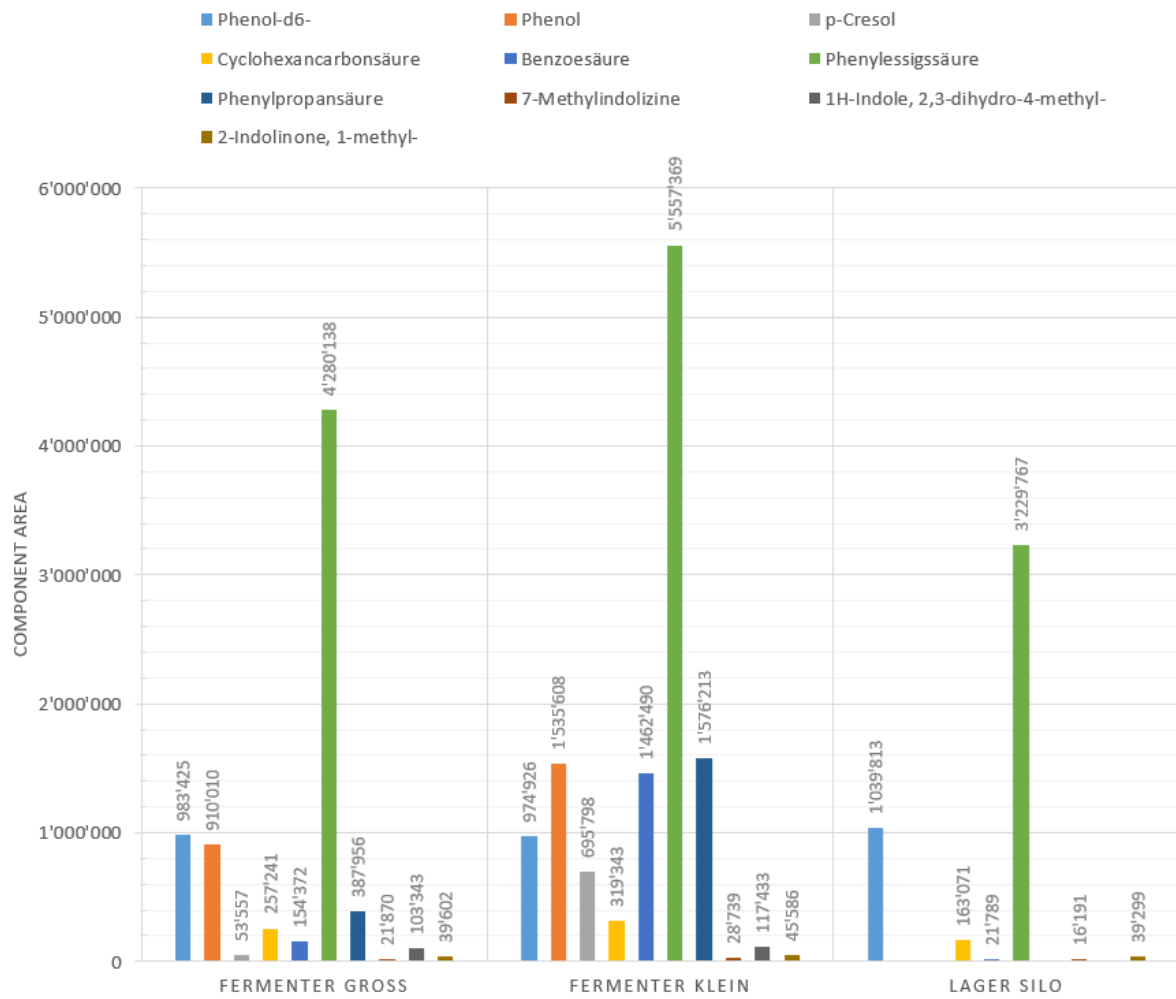


Abbildung 33: GC/MS Analyse der Restgaspotential Fermenter Gross, Fermenter Klein, Lager Silo

## 5 Diskussion

### Bestimmung TS- und oTS-Gehalt

Die Analyse zur Bestimmung des TS/oTS-Gehalts des Fettschlammes wurde mit drei verschiedenen durchgeführt, da die Werte entscheidend waren für die weiteren Versuche. Der Methodenvergleich zeigte, dass der TS-Gehalt durch Gefriertrocknen gegenüber der anderen zwei Methoden 10-15% höher ausfällt. In den Versuchen 1 und 2 wurde vorher die TS-Bestimmung für alle Proben mit dem Gefriertrockner durchgeführt, da befürchtet wurde, dass sich bei der Brutschrank-Methode bei 105°C zu viele Fettsäuren verflüchtigen. Wie der spätere Methodenvergleich beim Fettschlamm zeigt, muss davon ausgegangen werden, dass die Proben im Gefriertrockner nicht komplett getrocknet sind und die TS-Werte zu hoch ausfallen und nur bedingt Interpretationen zulassen. In der Literatur werden lipidhaltige Substrate im Brutschrank bei 105°C getrocknet und im Muffelofen bei 550°C verglüht (Rojas et al., 2011).

Als TS-Gehalt für den Fettschlamm wird in dieser Arbeit 62.5%, gemäss den Ergebnissen aus dem Brutschrank/Muffelofen, verwendet. Eine Substratanalyse des Labors für Boden- und Umweltanalytik der Eric Schweizer AG (Thun) hat für den Nutriswiss Fettschlamm im Dezember 2016 einen TS von 24.1 % ergeben, für ein nicht genauer definierten Fettschlamm (flüssig & pumpbar) in der Untersuchung von Rojas et al. (2011) wurde ein TS 13.87% von bestimmt und Baserga (1998) gibt für Fettabscheider Fett einen TS von 2-70% an. Zur Datensicherheit bezüglich des organischen Methanpotentials für die WIGAKO AG vom Nutriswiss Fettschlamm wird empfohlen weitere Proben zu analysieren.

### Versuch 1 (semikontinuierliche Hydrolyse)

Die sinkenden pH-Werte im Verlauf des Versuchs (ausser bei der reinen Schweinegülle x-x-4) zeigen, dass mikrobielle Aktivitäten stattgefunden haben. Die Werte bei 42°C sinken jedoch spätestens nach drei Tagen alle unter den pH-Wert 5, was die Aktivitäten in der AD gemäss Lehrmeinung behindert und einstellt (Bhumibhamon et al., 2002; Kaltschmitt et al., 2009; Krishania et al., 2013). Die Bildung von kurzkettigen Fettsäuren kann das Absinken des pH-Wertes erklären (Kroiss, 1986). Bei 55°C blieb der Prozess stabiler und die pH's sanken allgemein weniger stark. Vor allem der Unterschied zwischen den x-x-5 und x-x-6 Ansätzen ist frappant. Ein Vergleich der GC/MS Analyse dieser beider Ansätze zeigt, dass bei den 55°C Ansätzen tendenziell weniger LCFA abgebaut und weniger VFA vorhanden sind im Gegensatz zu den 42° Ansätzen. Dies könnte den höheren pH-Wert erklären, da dieser von den VFA stärker beeinflusst wird.

Bei der GC/MS Analyse kann über alle Ansätze die Aussage gemacht werden, dass im Versuchverlauf die LCFA (C18, C16, C14, C12, C10 & C8) abnehmen und abgebaut werden. Der Abbauverlauf der LCFA nach der  $\beta$ -Oxidation von J.A. Lalman & Bagley (2001) lässt sich auf Grund der

Datenlage und der Unsicherheiten in der Methode jedoch nicht beurteilen. Das Spektrum der LCFA könnte einen Hinweis darauf liefern, weshalb Fette (hier der Fettschlamm) ein höheres Methanpotential aufweisen, als proteinreiche (Schweinegülle) oder kohlenhydratreiche (Kartoffelsuppe) Substrate (Harris & McCabe, 2015). Während C18 und C16 LCFA in allen Ansätzen festgestellt wurden, sind die C14-C8 Säuren ausschliesslich in fettigen Ansätzen zu finden. Das Potential Essigsäure zu bilden ist höher als bei den anderen Ansätzen. Auffallend ist auch, dass in allen Ansätzen noch Substanzen wie Phenylelessigsäure, Phenole, Kresole oder Indole festgestellt wurden, die aus dem Proteinabbau stammen (Hári, 1928). Entweder sind diese Substanzen bereits im Inokulum drin oder alle Substrate enthalten gewisse Anteile an Proteinen, was gemäss Rojas et al. (2011), die einen Fettschlamm mit 70% Lipiden, 20% Proteine und 10% Kohlenhydrate definiert haben, der Fall ist.

Die tiefen pH-Werte und die wenig gefüllten Gasprobenahmebeutel deuteten darauf hin, dass bezüglich Substratabbau nicht viel geschehen ist. Bei einer Gesamtfettbestimmung in % pro eingewogene Menge der fetthaltigen Ansätze x-x-1, x-x-5 und x-x-6 bestätigte sich, dass über die ganzen 22 Tage kein Fett abgebaut worden war. Das unterstützt GC/MS Auswertung, bei der festgestellt werden kann, dass sich die Signalflächen der C10 bis C18 Fettsäuren nicht erhöhen. Die stattgefundenen Reaktionen müssen vor allem durch die freien Fettsäuren, die sich immer in einem Fettgemisch befinden, entstanden sein (Stieger, 2007). Diese lassen sich aber in der Fettextraktion nicht «festhalten» und verflüchtigen sich. Wie hoch der Anteil der freien Fettsäuren im Fettschlamm ist, ist jedoch nicht bekannt. Das Absinken des pH-Werts deutet aber darauf hin, dass vermehrt kurzkettige flüchtige Fettsäuren gebildet wurden, was auch eine Abnahme der Signalflächen der C10 bis C18 Fettsäuren in der GS/MS-Auswertung andeuten.

Die Ansätze wurden mit den oTS Substrat-Inokulum Verhältnis von x-x-1 = 8.3, x-x-2 = 14.3, x-x-3 = 3.0, x-x-4 = 0.86; x-x-5 = 18.2 und x-x-6 = 17.1 angesetzt. Gemäss VDI (2006) soll das oTS-Verhältnis Substrat-Inokulum den Wert 0.5 nicht übersteigend, weil sonst die AD gehemmt wird. Ähnliche Werte werden von Ma et al. (2015) bestätigt. Die Werte liegen, abgesehen vom Ansatz mit der Schweinegülle (1-1-4, 1-2-4), weit über den vorgeschlagenen Konzentrationen. Die organische Raumbelastung (ORL) des Versuches lag bei allen fetthaltigen Ansätzen bei 214 kg oTS/m<sup>3</sup>\*d. Andere Autoren testeten bei stark lipidhaltigen Substraten maximale ORL von 5.2 kg oTS/m<sup>3</sup>\*d (Ferreira et al., 2012), Bereiche zwischen 0.3 bis 1.3 kg oTS/m<sup>3</sup>\*d (Alvarez & Lidén, 2008) oder von 3.76 kg oTS/m<sup>3</sup>\*d (Pitk et al., 2014). Die Fettkonzentrationen im Versuch und die damit verbundene LCFA-Konzentration war zu hoch. Den bereits ab geringen LCFA-Konzentrationen wird die Methanproduktion und der VFA-Abbau gehemmt (siehe Tabelle 1).

Wegen der starken Hemmung der Ansätze ist es schwierig die beiden Temperaturen miteinander zu vergleichen. Obwohl die GC/MS-Daten darauf hindeuten, dass bei 42°C mehr LCFA abgebaut werden konnten als bei 55°C, kann die Empfehlung von Long et. al (2012) und weiteren Autoren von

thermophilen Bedingungen mit dieser Datenlage nicht beurteilt werden. Auch ein positiver Effekt von der Co-Vergärung von protein- und lipidreichen Substraten wie Pikt et al. (2014) oder Alvarez & Lidén (2008) festgestellt haben, kann nicht bestätigt werden. Die Entwicklung des pH zeigt, dass je nach Menge und Substrat, die in einem Ansatz (Fermenter) hinzugegeben wird, dieser unter Kontrolle gehalten werden muss, damit die AD nicht behindert wird. Besonders in einer Hydrolyse, in der keine acetogenesen und methanogenen Bakterien die VFA fortlaufend abbauen.

### **Versuch 2 (Batch Hydrolyse)**

Nach der Hemmung im Versuch 1 ist die Fettschlammkonzentration angepasst und viel tiefer angesetzt worden. Zu 600 ml Inokulum wurde 5.36 g Fettschlamm hinzugegeben, was gemäss Berechnung in Kapitel 3.6.1 einer näherungsweisen Fettsäurenkonzentration von 5 g/l ergibt, in der Annahme das der gesamte oTS des Fettschlamm aus Triglycerid-Molekülen besteht und alle Fettsäuren gleichzeitig abgespalten werden. In der Realität besteht Fettschlamm nicht nur aus Fetten, sondern auch aus Proteinen und Kohlenhydrat (Rojas et al., 2011) und es sind auch freie Fettsäuren im Gemisch enthalten (Stieger, 2007). Diese Berechnung lässt sich somit nicht mit LCFA Hemmkonzentrationen in der Literatur vergleichen, die viel geringer ausfallen (siehe Tabelle 1). Wie der Versuch 2, aber auch der Versuch 3, zeigen sind die Fettschlammkonzentrationen aber in der richtigen Grössenordnung.

Die pH-Werte der drei unveränderten Ansätze veränderten sich im Verlauf der fünf Tage beim «Inok y» (7.65) und «Inok z» (7.2) nicht und beim «Inok x»-u nur geringfügig (8.1 auf 7.85). Die Werte bewegen sich im normalen Bereich für ein AD (Kaltschmitt et al., 2009; Krishania et al., 2013). Der eingestellte pH von 5.5 änderte sich ebenfalls nicht und befand sich eigentlich im optimalen Bereich für die Aktivität von fermentativen Bakterien (Kaltschmitt et al., 2009; Krishania et al., 2013). Der pH 9 sank zu beginn, wurde nach 2 Tagen nochmals erhöht und blieb konstant. Eine Gesamtfettbestimmung analog zu Versuch 1, wobei die Methodenfehler diesmal nicht mehr gemacht wurden, ergab ein unerwartetes Resultat. Die beiden «Inok y» und «Inok z» bauten rund 4/5 und 3/4 ihres Fettgehaltes ab. Bei den Versuchen mit dem «Inok x» konnte jedoch keinen Abbau festgestellt werden, obwohl die Voraussetzung durch den pH und das Inokulum vermeintlich besser war.

Der Einfluss des pH auf den Lipidabbau konnte deshalb auch in diesem Versuch nicht beurteilt werden, da das verwendete Substrat bei der pH-Variierung kein Fett abbauen konnte. Auf die Diskussion der verschiedenen Substrate wird im Versuch 3 genauer eingegangen.

### **Versuch 3 (BMP Matrix)**

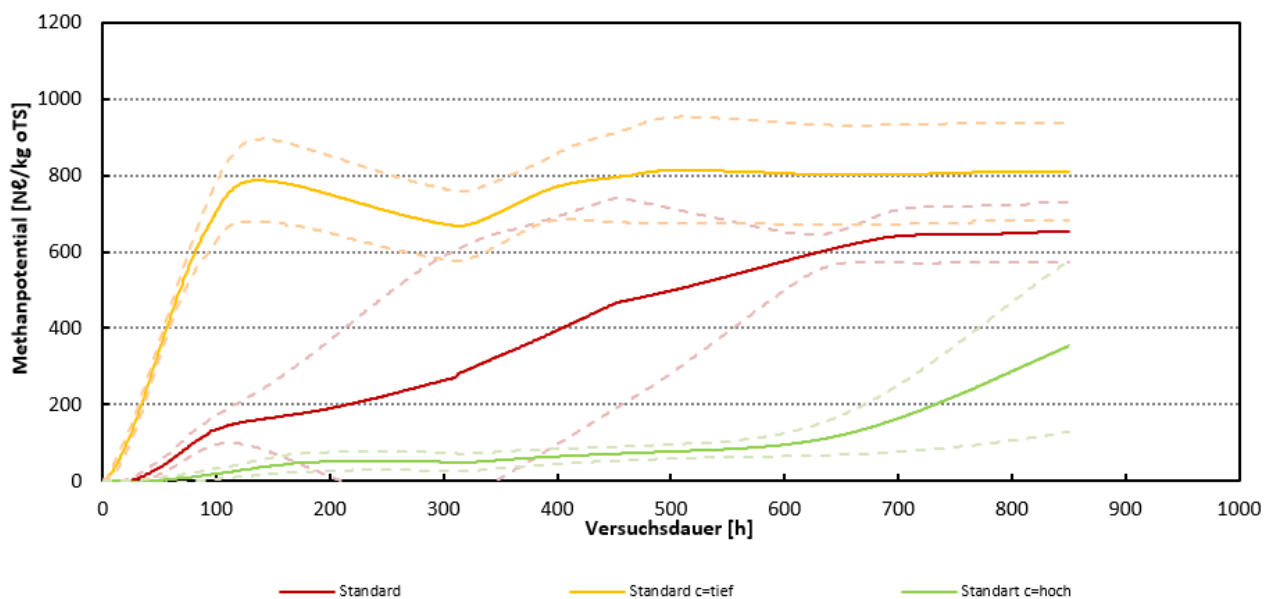
Die Resultate haben gezeigt, dass durch die geringen Probenmenge nur Aussagen mit geringem statistischem Wert gemacht werden können. Tendenzen sind aber klar zu erkennen und können mit der Literatur bestätigt werden. Im Versuch sind mit der Temperatur, der Konzentration und der Art



des Fettschlamm (Substrat oder chemisch hydrolysiert), und dem Inokulum verschiedene Parameter getestet worden.

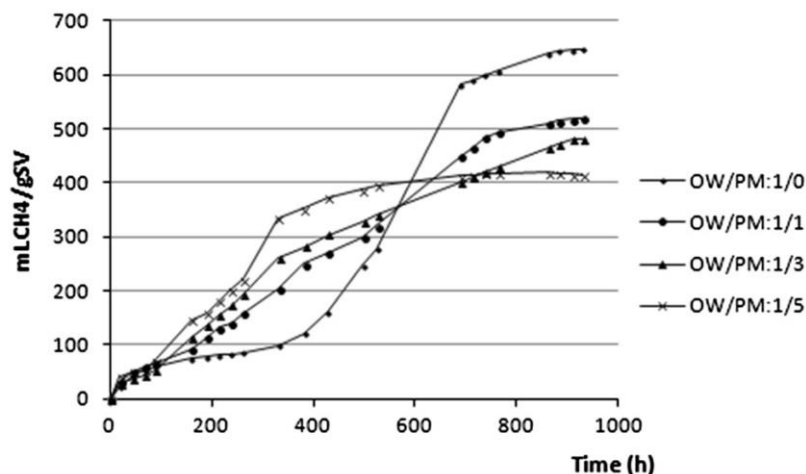
Die Temperaturerhöhung von 37°C auf 42° hat auf den Abbau und die Methanproduktion tendenziell einen positiven Effekt. Das Methanpotential (MP) ist im Mittelwert rund 100 NI/kg oTS höher und der Abbau des organischen Materials erfolgt in kürzerer Zeit. Diese Beobachtungen decken sich mit der Empfehlung von Long et al. (2012), nach der höhere Temperaturen die Lipide für Mikroorganismen und ihre Enzyme leichter zugänglich machen und der Erkenntnis, dass höhere Temperaturen generell schnellere Abbauzeiten ermöglichen (Kaltschmitt et al., 2009) und höhere Biogasausbeuten erreichbar sind (Lee et al., 2009).

Bei den verschiedenen Fettschlammkonzentrationen von 4.5 g/l, 8.9 g/l, 18.0 g/l und 157.1 g/l zeigen sich die Hemmungen der LCFA. Die theoretisch reale Konzentration von 157.1 g/l hemmte die AD so stark, dass über die 750 h kein Gas gebildet wurde. Die Konzentration war so hoch, dass sämtliche biologische Aktivitäten blockiert wurden, was von verschiedenen Autoren ebenfalls dokumentiert wurde (Angelidaki & Ahring, 1992; Koster & Cramert, 1987; J. Lalman & Bagley, 2002). Die restlichen Resultate zeigen, dass die tiefste Konzentration von 4.5 g/l deutlich am schnellsten abgebaut wird und das spezifische MP mit 805.9 NI/kg oTS nach 750 h tendenziell am höchsten ist. Der Wert von 806 NI/kg oTS ist verglichen mit dem Literaturwert von 1014 l CH<sub>4</sub>/kg oTS schon gut (Harris & McCabe, 2015). Die Konzentration von 18.0 g/l (Standard, c=hoch) ist zu ebenfalls zu hoch, der Abbau erfolgt nur sehr langsam und ist kurvenspezifisch stark verzögert (VDI, 2006). Das Methanpotential könnte über einen längeren Zeitraum noch ausgeschöpft werden. Die aus genannten Gründen nicht benutzten Daten bis 850 h zeigen diese Tendenz (Abbildung 34). Nach 750 h ist das Verhältnis 806 zu 222 NI/kg oTS und nach 850 h noch 810-353 NI/kg oTS. Jedoch sind die Unterschiede innerhalb der Dreifachbestimmung sehr gross.



**Abbildung 34: Vergleich des Methanpotentials [NI/kg oTS] bei verschiedenen Fettschlamm-Konzentrationen nach 850 h**

Eine ähnliche Beobachtung bei einem ähnlichen Versuch machten auch Hidalgo et al. (2015) bei einem BMP-Versuch (beschrieb im Kapitel 2.3.2). Die weniger konzentrierten Mischungen bauten am schnellsten ab, die höher konzentrierten hatten nach 1000 h ein höheres MP (Abbildung 35). Die Konzentration der Mischungen im Inokulum betrug 6.5 g/l, der Fettgehalt des Öls betrug 49.6% und es wurden keine Hemmungen im Prozess festgestellt. 6.5 g/l mit einem Fettanteil von 49.6% ergeben rund 3.2 g reines Fett, die 4.5 g/l Fettschlamm mit einem geschätzten Fettanteil von 70% (eher zu tief) ergibt 3.15 g reines Fett (Rojas et al., 2011). Das spezifische Methanpotential war beim Fettschlamm c=tief mit 806 NI/kg oTS noch um rund 150 NI/kg oTS höher als bei Hidalgo et al. (2015). Die Größenordnungen der verwendeten Fettschlammkonzentration sind also durchaus im möglichen Bereich. Die Konzentrationen für das «Inok x» sind bei 8.9 g/l (6.2 reines Fett) und 18.0 g/l (12.6 g reines Fett) aber wohl schon zu hoch, sodass das spezifischen Methanpotential von 4.5 g/l nicht erreicht wird. Das Resultat, dass höhere (zu hohe) Konzentrationen von Fett weniger spezifischen Methanpotentiale hervorbringen, dokumentiert zum Beispiel Pitk et al. (2014).



**Abbildung 35: Verlauf der spezifische Methanproduktion der verschiedenen**

**Mischungen bei unterschiedlichen Öl(OW)/Schweinegülle(PM)-Verhältnissen (Hidalgo et al., 2015)**

Die schnelle Abbauprodukt bei tieferen Konzentrationen könnte ideal für eine Hydrolyse genutzt werden. Da nach rund 100 h (4 d) das MP bereits erreicht ist, könnte bei einer kürzeren Verweilzeit in der Hydrolyse schon eine gute Vorarbeit für die methanogenen Bakterien liefern.

Der Versuch Fettschlamm im Voraus chemisch zu hydrolysieren und so einen schnelleren Abbau zu ermöglichen, brachte für den Standard zwar eine Abbaubeschleunigung und ein höheres spezifisches Biogaspotential, kann aber wegen der ungenauen Umrechnung in Kapitel 3.6.1 nicht 1:1 verglichen werden.

Die Verwendung der Inokula wurde so ausgewählt, dass ein an Fett gewöhntes Inokulum («Inok x») als Standard bestimmt wurde, da eine Akklimatisierung der Mikroorganismen an LCFA gemäss verschiedenen Autoren möglich ist (J. A. Lalman & Bagley, 2001; Palatsi et al., 2010). Der Vergleich der verschiedenen Inokula zeigt jedoch, dass nach 473 h das «Inok z» der ARA Rietliu mit einem spezifischen Methanpotential von 984 NI/kg oTS vor dem «Inok y» der Krone GmbH (864 NI/kg oTS) und des «Inok x» (480 NI/kg oTS) liegt. Es ist möglich, dass die Bakterien des «Inok x» spezialisiert sind auf ihre spezifische Fütterung in der industriellen Biogasanlage. Nach Sousa et al. (2007) sind einzelne Bakterien spezialisiert und können nicht jede beliebige Fettsäure abbauen. Zudem nimmt die Bakterienvielfalt bei höherer Lipidkonzentration allgemein ab, was die Fähigkeit eine grosse Bandbreite an Substanzen abzubauen vermindert. (Ma et al., 2015; VDI, 2006). Das «Inok y» der Krone GmbH musste zwar nach 473 h abgebrochen werden, die Tendenz deutet aber darauf hin, dass das Methanpotential noch steigen könnte.

Das «Inok z» der ARA Rietliu umschreibt als einziger Ansatz eine Normale Kurve der Methanproduktion. Laut VDI (2006), das Faulschlamm aus einer kommunalen Kläranlage als Inokulum für Laborversuche empfiehlt, kommen die Bakterien in einer ARA mit einer Vielzahl an Substanzen in Kontakt und bilden dadurch eine vielseitige Gemeinschaft. Gut geeignet für den Abbau von Fetten und Ölen sind *Acinetobacter sp.*, *Bacillus sp.* und *Pseudomonas sp.* (Bhumibhamon et al., 2002) und *Enterobacter aerogenes* und *Arthrobacter sp.* (Čipinytė et al., 2009). *Acinetobacter sp.* wird von Ma et al. (2015) explizit als Hauptstamm für einen effizienten Abbau von lipidhaltigem Abwasser beschrieben. Neben der *Acinetobacter sp.* kommen auch *Bacillus sp.* und *Pseudomonas sp.* im Faulschlamm in grosser Zahl vor (Horn et al., 2009). Faulschlamm ist dadurch gut geeignet für den Abbau von Fetten und Ölen, dazu kommt das die von Bhumibhamon et al. (2002) genannten Bakterien neben Lipase auch Amylase und Protease für den Kohlenhydrat und Protein Abbau produzieren können.

Die Ansätze, bei welchen die Biogasproduktion vom Fettschlamm und den Inokula gemessen wurde, zeigen die Hemmung durch die reale Fettschlammkonzentration ebenfalls deutlich. Zu Beginn wird durch das Inokulum noch Gas produziert, nach etwa 50 h steht der Ansatz jedoch still. Die Messungen des Biogases zeigen, dass zu Beginn noch Methan produziert wurde. Sobald der Ansatz durch die Hemmung blockiert war, wurde nur noch sehr wenig Gas produziert und ausschliesslich CO<sub>2</sub>. Der Ansatz mit der Standard Konzentration verlief fast im Normalverlauf und die Methananteile sind mit 70 % und 74 % bei den höchsten Werten, die in der Literatur für Fett zu finden sind: 68% (Baserga, 1998), 72% (VDI, 2006) und 68% (FNR, 2016).

### **Restgaspotential der bestehenden Anlagenkonfiguration**

Das spezifische Restgaspotential des Lager Silo (99 NI/kg oTS) ist mehr als 1/3 höher als das Potential des Grossen Fermenters (60 NI/kg oTS) und rund 1/4 höher als des kleinen Fermenters

(75 NI/kg oTS). Dieses Resultat überrascht, da die Werte üblicherweise umgekehrt in solchen Größenordnungen gemessen werden (Sax et al., 2013). Bei einer BMP Messung von Beyeler (2018) wies ein Fermenter der WIGAKO AG (nicht näher definiert) ein Potential von ca. 115 und das Lager Silo von rund 30 NI/kg oTS auf (Beyeler, 2018).

Bei einer Rücksprache mit Klaus Wittwer der WIGAKO AG ergaben sich mehrere Anhaltspunkte, die solche Werte erklären könnten. Das Material in den Fermentern 1 & 2 wird über eine Staunase etwa 10 cm unter der Oberfläche im Überlaufprinzip in das Lager Silo geführt. Die Probenahmestelle im grossen Fermenter befindet sich 1 m unter der Oberfläche, beim kleinen Fermenter werden die Proben über die Staunase entnommen. Das Material aus dem Lager Silo wird zum Abtransport über einen Anschluss am Boden in einen Tankwagen gepumpt. Aus dem Tankwagen werden jeweils die Proben anschliessend gesammelt. Es könnte also sein, dass aufschwimmendes Fett im grossen Fermenter, was gemäss Klaus Witter öfters vorkommt, zwar in das Lager Silo geleitet wird, bei der Probenahme im grossen Fermenter aber nicht in die Probe kommt. Zudem ist der FOS/TAC-Wert im kleinen Fermenter tendenziell höher als im grossen Fermenter, was ein grösser Restgaspotential zwischen den Fermenter erklären könnte. (*Probenahme Orte und Handhabung Fettschlamm*, personal communication, January 6, 2020)

Ebenfalls war zur Zeit der Probenahme Ende September 2019 das Lager Silo eigentlich leer. Das Material wurde jeweils sofort weiterverwendet und ausgeliefert. Die Verweilzeit im Lager Silo war demnach gleich null. Die Proben aus dem Lager Silo sind eigentlich frisches Fermentermaterial, ab der Oberfläche der Fermenter.

Die GC/MS-Analyse weist für das Lager Silo allerdings keine höheren Substanzkonzentrationen aus. Im Gegenteil sind abgesehen vom ISDT alle Substanzen in kleineren Mengen vorhanden. Der Unterschied des grossen und kleinen Fermenters mit den Daten der GC/MS Analyse bestätigt werden.

## 6 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die durchschnittliche organische Raumbelastung der Fermenter ( $700 \text{ m}^3$ ) der WIGAKO beträgt momentan  $5.01 \text{ kg oTS/m}^3\cdot\text{d}$ . Allein der Fettschlamm (oTS 64% FM) macht daran einen Anteil von  $2.45 \text{ kg oTS/m}^3\cdot\text{d}$  aus. In den zwei neuen Hydrolysetanks (je  $100 \text{ m}^3$ ) beträgt die Raumbelastung, sofern der ganze Fettschlamm durch die Hydrolyse gefahren wird, allein vom Fettschlamm neu  $8.58 \text{ kg oTS/m}^3\cdot\text{d}$ . Ob mit dieser Belastung ein stabiler Prozess erreicht werden kann muss sich zeigen. Vergleichswerte fehlen hierzu.

Alternativ könnte bei einer starken Belastung der Hydrolyse durch andere Substrate, einen Teil des Fettschlammes direkt in die Fermenter gepumpt werden, was jedoch einen Gasverlust zur Folge haben könnte. Die Gefahr bei einer zu hohen Konzentration von Fetten ist die Hemmung durch langkettige Fettsäuren, wodurch die Mikrobiologische Aktivität gehemmt oder sogar komplett eingestellt wird. In der Literatur sind verschiedene Hemmungskonzentrationen zu finden, diese 1:1 auf den Fettschlamm anzuwenden ist aber nicht möglich und würde genauere Analysen erfordern.

Für die Verwendung von geeigneten Co-Substraten konnte diese Arbeit auf Grund der beschriebenen Probleme keine Hinweise liefern. In der Literatur wird aber von einem positiven Effekt auf die Hemmungskonzentrationen berichtet, wenn fetthaltige und proteinreiche Substrate zusammen vergoren werden (Pitk et al., 2014).

Für den Einfluss von pH-Werte können ebenfalls keine eigenen Aussagen getroffen werden. Es hat sich aber bestätigt, dass bei zu hoher Dosierung der Substrate die pH-Werte (zu) tief sinken können, wenn gleichzeitig noch die mikrobielle Aktivität gehemmt ist. Für die WIGAKO ist in dieser Hinsicht vielleicht auf die Kartoffelsuppe zu achten, da das Substrat selbst schon einen pH von unter 4 besitzt.

Bakterien können auf verschiedene Substanzen spezialisiert sein und die Verfügbarkeit einer grossen Bandbreite an Substanzen scheint Bakteriengemeinschaften zu helfen sich vielseitiger zu spezialisieren. Eine passende Mikrobiologie kann dadurch Lipide schneller und effizienter abbauen, wie der Versuch 3 gezeigt hat. Das Inok der ARA Rietliau wäre dank der guten mikrobiellen Voraussetzungen vielleicht fähig, höhere Fettschlammkonzentrationen abzubauen, als das beim «Inok x» der Fall war.

Untersuchungen mit dem Fermentermaterial der WIGAKO könnten Aufschluss darüber bringen, wie hohe Fettschlammkonzentrationen die Bakteriengemeinschaft verträgt und ob allenfalls ein Animpfen der Hydrolyse mit einer anderen Biologie sinnvoll sein könnte.

## 7 Literaturverzeichnis

- Alvarez, R., & Lidén, G. (2008). Semi-continuous co-digestion of solid slaughterhouse waste, manure, and fruit and vegetable waste. *Renewable Energy*, 33(4), 726–734. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2007.05.001>
- Angelidaki, I., & Ahring, B. K. (1992). Effects of free long-chain fatty acids on thermophilic anaerobic digestion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37(6). <https://doi.org/10.1007/BF00174850>
- Aveldano, M. I., & Horrocks, L. A. (1983). Quantitative release of fatty acids from lipids by a simple hydrolysis procedure. 24, 1101–1105.
- Baserga, U. (1998). *Landwirtschaftliche Co-Vergäungsbiogasanlagen* (No. 512; FAT-Berichte). Eidg. Forschungsanstalt für Agrarwirtschaft und Landtechnik (FAT). [https://www.infothek-biomasse.ch/images//1998\\_FAT\\_Landwirtschaftliche\\_Biogasanlagen.pdf](https://www.infothek-biomasse.ch/images//1998_FAT_Landwirtschaftliche_Biogasanlagen.pdf)
- Beyeler, R. (2018). *Bestimmung des Restgaspotenzials in landwirtschaftlichen Biogasanlagen*.
- Bhumibhamon, O., Kopraserstak, A., & Funthong, S. (2002). Biotreatment of High Fat and Oil Wastewater by Lipase Producing Microorganisms. 261–267.
- Čipinytė, V., Grigiskis, S., & Baškys, E. (2009). Selection of fat-degrading microorganisms for the treatment of lipid-contaminated environment. *Biologija*, 55(3), 84–92. <https://doi.org/10.2478/v10054-009-0014-3>
- Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe, Deutsches BiomasseForschungsZentrum, Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft, & Institut für Agrartechnologie und Biosystemtechnik (Eds.). (2016). *Leitfaden Biogas: Von der Gewinnung zur Nutzung* (7. Auflage). Druckerei Weidner.
- Ferreira, L., Duarte, E., & Figueiredo, D. (2012). Utilization of wasted sardine oil as co-substrate with pig slurry for biogas production – A pilot experience of decentralized industrial organic waste

- management in a Portuguese pig farm. *Bioresource Technology*, 116, 285–289.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.063>
- FNR (Ed.). (2016). *Leitfaden Biogas: Von der Gewinnung zur Nutzung* (7. Auflage). Druckerei Weidner.
- Gerhardt Analytical Systems. (2016). *Extraktion Vollautomatisch*.
- Grosser, A., & Neczaj, E. (2016). Enhancement of biogas production from sewage sludge by addition of grease trap sludge. *Energy Conversion and Management*, 125, 301–308.  
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.05.089>
- Hári, P. (1928). *Kurzes Lehrbuch der physiologischen Chemie*. Springer.
- Harris, P. W., & McCabe, B. K. (2015). Review of pre-treatments used in anaerobic digestion and their potential application in high-fat cattle slaughterhouse wastewater. *Applied Energy*, 155, 560–575. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2015.06.026>
- Hidalgo, D., Gómez, M., Martín-Marroquín, J. M., Aguado, A., & Sastre, E. (2015). Two-phase anaerobic co-digestion of used vegetable oils' wastes and pig manure. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 12(5), 1727–1736. <https://doi.org/10.1007/s13762-014-0560-9>
- Horn, H., Rapp-Fiegle, S., Günthert, F. W., Holttorff, M., Bischof, F., & Chwistek, M. (2009). *Forschungsvorhaben "Kläranlagen der Zukunft"—Themenbereiche Faulgasproduktion, Anaerobtechnik und Deammonifikation* [Schlussbericht]. LfU Bayern.  
[https://www.bgu.tum.de/fileadmin/w00blj/sww/\\_migrated\\_content\\_uploads/LfU-Abschlussbericht\\_2009\\_Rapp-Fiegle\\_01.pdf](https://www.bgu.tum.de/fileadmin/w00blj/sww/_migrated_content_uploads/LfU-Abschlussbericht_2009_Rapp-Fiegle_01.pdf)
- Huber, S., Rüsch, F., Krautwald, J., & Baier, U. (2019). *Projekt HYKOM* [Zwischenbericht]. (unveröffentlicht)
- Kaltschmitt, M., Hartmann, H., & Hofbauer, H. (Eds.). (2009). *Energie aus Biomasse: Grundlagen, Techniken und Verfahren* (2., neu bearbeitete und erw. Aufl). Springer.

- Kaufmann, U. (2018). *Schweizerische Statistik der erneuerbaren Energien* (p. 85). Bundesamt für Energie BFE.
- Koster, I. W., & Cramert, A. (1987). Inhibition of Methanogenesis from Acetate in Granular Sludge by Long-Chain Fatty Acids. *Applied Environmental Microbiology*, 53(2), 7.
- Krautwald, J., & Baier, U. (2016). *Biologische Vorbehandlung von Hauskehricht* [Schlussbericht]. BAFU Bundesamt für Umwelt.
- Krishania, M., Kumar, V., Vijay, V. K., & Malik, A. (2013). Analysis of different techniques used for improvement of biomethanation process: A review. *Fuel*, 106, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2012.12.007>
- Kroiss, H. (1986). Anaerobe Abwasserreinigung. *Wiener Mitteilungen*, 62.
- Lalman, J. A., & Bagley, D. M. (2001). Anaerobic degradation and methanogenic inhibitory effects of oleic and stearic acids. *Water Research*, 35(12), 2975–2983. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00593-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00593-5)
- Lalman, J., & Bagley, D. M. (2002). Effects of C18 long chain fatty acids on glucose, butyrate and hydrogen degradation. *Water Research*, 36(13), 3307–3313. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00014-3](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00014-3)
- Lee, M., Hidaka, T., Hagiwara, W., & Tsuno, H. (2009). Comparative performance and microbial diversity of hyperthermophilic and thermophilic co-digestion of kitchen garbage and excess sludge. *Bioresource Technology*, 100(2), 578–585. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.06.063>
- Long, J. H., Aziz, T. N., Reyes, F. L. de los, & Ducoste, J. J. (2012). Anaerobic co-digestion of fat, oil, and grease (FOG): A review of gas production and process limitations. *Process Safety and Environmental Protection*, 90(3), 231–245. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2011.10.001>
- Ma, J., Zhao, Q.-B., Laurens, L. L. M., Jarvis, E. E., Nagle, N. J., Chen, S., & Frear, C. S. (2015). Mechanism, kinetics and microbiology of inhibition caused by long-chain fatty acids in



- anaerobic digestion of algal biomass. *Biotechnology for Biofuels*, 8. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0322-z>
- Martínez, E. J., Fierro, J., Sánchez, M. E., & Gómez, X. (2012). Anaerobic co-digestion of FOG and sewage sludge: Study of the process by Fourier transform infrared spectroscopy. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 75, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.07.015>
- Montgomery, L. F. R., & Bochmann, G. (2014). *Pretreatment of feedstock for enhanced biogas production*. 24.
- Mortimer, C. E., & Müller, U. (2010). *Chemie* (10., überarb. Aufl). Thieme.
- Noutsopoulos, C., Mamais, D., Antoniou, K., Avramides, C., Oikonomopoulos, P., & Fountoulakis, I. (2013). Anaerobic co-digestion of grease sludge and sewage sludge: The effect of organic loading and grease sludge content. *Bioresource Technology*, 131, 452–459. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.193>
- Nutriswiss. (n.d.). *Nutriswiss—Informationen*. Retrieved January 3, 2020, from <https://www.nutriswiss.ch/de/nutriswiss/Informationen>
- Oh, S. T., & Martin, A. D. (2010). Long chain fatty acids degradation in anaerobic digester: Thermodynamic equilibrium consideration. *Process Biochemistry*, 45(3), 335–345. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.10.006>
- Palatsi, J., Illa, J., Prenafeta-Boldú, F. X., Laureni, M., Fernandez, B., Angelidaki, I., & Flotats, X. (2010). Long-chain fatty acids inhibition and adaptation process in anaerobic thermophilic digestion: Batch tests, microbial community structure and mathematical modelling. *Bioresource Technology*, 101(7), 2243–2251. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.069>
- Pitk, P., Palatsi, J., Kaparaju, P., Fernández, B., & Vilu, R. (2014). Mesophilic co-digestion of dairy manure and lipid rich solid slaughterhouse wastes: Process efficiency, limitations and floating granules formation. *Bioresource Technology*, 166, 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.033>

- Probenahme Orte und Handhabung Fettschlamm*. (2020, January 6). [Personal communication].
- PubChem. (2019a, December 21). *Benzoic acid-d5*. U.S. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/71603>
- PubChem. (2019b, December 28). *Phenol-d5*. U.S. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12205419>
- Rojas, C., Uhlenhut, F., Schlaak, M., Borchert, A., & Steinigeweg, S. (2011). Simulation des anaeroben Prozesses bei der Biogaserzeugung. *Chemie Ingenieur Technik*, 83(3), 306–321. <https://doi.org/10.1002/cite.201000100>
- Rosenwinkel, K.-H., Kroiss, H., Dichtl, N., Seyfried, C.-F., & Weiland, P. (Eds.). (2015). *Anaerob-technik: Abwasser-, Schlamm- und Reststoffbehandlung, Biogasgewinnung* (3., neu bearb. Aufl). Springer Vieweg.
- Sax, M., Schick, M., Bolli, S., Soltermann-Pasca, A., & Van Caenegem, L. (2013). *Methanverlust bei landwirtschaftlichen Biogasanlagen* [Abschlussbericht].
- Senn, M., Nägele, H.-J., & Rüschi, F. (2019). *WIGAKO Massenbilanz 2018*. (unveröffentlicht)
- Sousa, D. Z., Pereira, M. A., Stams, A. J. M., Alves, M. M., & Smidt, H. (2007). Microbial Communities Involved in Anaerobic Degradation of Unsaturated or Saturated Long-Chain Fatty Acids. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(4), 1054–1064. <https://doi.org/10.1128/AEM.01723-06>
- Stieger, M. (2007). *Elemente: Grundlagen der Chemie für Schweizer Maturitätsschulen* (1. Auflage). Klett und Balmer.
- Triglyceridabbau – Was Medizinstudenten wissen müssen*. (2015, September 16). Lecturio Magazin. <https://www.lecturio.de/magazin/triglyceridabbau/>
- VDI. (2006). *VDI 4630—Vergärung organischer Stoffe*.

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Grundfliessbild der Biogasanlage WIGAKO als zweistufige Vergärung nach dem Umbau im Jahr 2018/19 (Huber et al., 2019) .....	8
Abbildung 2: Prinzip einer anaeroben, zweistufigen Vergärung im Biogasprozess (Krautwald & Baier, 2016) .....	9
Abbildung 3: Strichformel eines Triglycerid-Moleküls (Fettmolekül). Linker Teil: Glycerin; rechts oben: Palmitinsäure (C16 gesättigt); rechts mitte: Ölsäure (C18 ungesättigt); rechts unten: Linolensäure (C18, 3-fach ungesättigt) ( <i>Triglyceridabbau – Was Medizinstudenten wissen müssen</i> , 2015) .....	12
Abbildung 4: : $\beta$ -Oxidation Reaktion und Energiewerte für verschiedene LCFA's (J. A. Lalman & Bagley, 2001).....	14
Abbildung 5: Verbleibende methanogene Aktivität nach Exposition mit Caprylsäure (A), Caprinsäure (B), Laurinsäure (C), Myristinsäure (D), und Ölsäure (E). 5 mM = 1 g/l, 10 mM = 2 g/l (Koster & Cramert, 1987).....	16
Abbildung 6: Verbleibende methanogene Aktivität nach Exposition mit Caprinsäure und verschiedenen Mengen Laurinsäure (unten links) und Myristinsäure mit zusätzlicher Laurinsäure (unten rechts) 5 mM = 1 g/l, 10 mM = 2 g/l (Koster & Cramert, 1987) .....	16
Abbildung 7: Hemmung der Methanbildung in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Essigsäurekonzentration (Kroiss, 1986).....	17
Abbildung 8: Strukturformel Benzoensäure-d5 (PubChem, 2019a) .....	32
Abbildung 9: Strukturformel Phenol-d5 (PubChem, 2019b).....	32
Abbildung 10: Einstellungen für die Extraktion im SOXTHERM-Manager .....	35
Abbildung 11: Verlauf der pH-Werte bei 42°C (Daten im Anhang F) .....	37
Abbildung 12: Verlauf der pH-Werte bei 55°C (Daten im Anhang F) .....	37
Abbildung 13: Verlauf der TS-Werte bei 42°C mittels Gefriertrocknen (Daten im Anhang F) .....	38
Abbildung 14: Verlauf der TS-Werte bei 55°C mittels Gefriertrocknen (Daten im Anhang F) .....	38
Abbildung 15: GC/MS 1-1-1 Fettschlamm 42°C .....	40
Abbildung 16: GC/MS 1-2-1 Fettschlamm 55°C .....	40
Abbildung 17: GC/MS 1-1-2 Haco-Kaffeesatz 42°C .....	41

Abbildung 18 GC/MS: 1-2-2 Haco-Kaffeesatz 55°C .....	41
Abbildung 19: GC/MS 1-1-3 Kartoffelsuppe 42°C .....	42
Abbildung 20 GC/MS: 1-2-3 Kartoffelsuppe 55°C .....	42
Abbildung 21: GC/MS 1-1-4 Schweinegülle 42°C .....	43
Abbildung 22 GC/MS: 1-2-4 Schweinegülle 55°C .....	43
Abbildung 23: GC/MS 1-1-5 Fettschlamm & Kartoffelsuppe 42°C .....	44
Abbildung 24 GC/MS: 1-2-5 Fettschlamm & Kartoffelsuppe 55°C .....	44
Abbildung 25: GC/MS 1-1-6 Fettschlamm & Schweinegülle 42°C .....	45
Abbildung 26 GC/MS: 1-2-6 Fettschlamm & Schweinegülle 55°C .....	45
Abbildung 27: Vergleich des Methanpotentials [NI/kg oTS] des Fettschlamms bei zwei unterschiedliche Temperaturen (37°C, 42°C).....	48
Abbildung 28: Vergleich des Methanpotentials [NI/kg oTS] des Fettschlamms in den drei verschiedenen Inokula (Standard Kronauer = Standard «Inok y» & Standard Rietliau = «Inok z») .....	49
Abbildung 29: Vergleich des Methanpotentials [NI/kg oTS] bei verschiedenen Fettschlamm-Konzentrationen nach 750 h .....	50
Abbildung 30: Vergleich des Methanpotentials [NI/kg oTS] von Fettschlamm und reinen Fettsäuren (hydrolisiert aus dem Fettschlamm) .....	50
Abbildung 31: Vergleich des Biogaspotentials [NI/kg oTS] von Fettschlamm mit dem Inokulum bei verschiedenen Konzentrationen.....	51
Abbildung 32: Vergleich des spezifischen Methanpotentials [NI/kg oTS] der bestehenden Anlagenkonfiguration mit Fermenter Gross, Fermenter Klein und Lager Silo .....	52
Abbildung 33: GC/MS Analyse der Restgaspotential Fermenter Gross, Fermenter Klein, Lager Silo .....	53
Abbildung 34: Vergleich des Methanpotentials [NI/kg oTS] bei verschiedenen Fettschlamm-Konzentrationen nach 850 h .....	58
Abbildung 35: Verlauf der spezifische Methanproduktion der verschiedenen .....	58

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht hemmende Konzentrationen von LCFA von verschiedenen Quellen .....	15
Tabelle 2: Übersicht Substratauswahl mit den Verbrauchsdaten der WIGAKO AG im Jahr 2018 (Senn et al., 2019) .....	20
Tabelle 3: Namensgebung anaerobe semikontinuierliche Hydrolyse.....	22
Tabelle 4: Versuchsaufbau semikontinuierliche Hydrolyse.....	22
Tabelle 5: Batch-Versuchsaufbau .....	24
Tabelle 6: TS/oTS-Gehalt-Bestimmung der drei Inokula für die BMP-Matrix im Brutschrank/Muffelofen. Angaben Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) von einer Doppelbestimmung. (Berechnungen im digitalen Anhang).....	26
Tabelle 7: Versuchsmatrix BMP Versuch 3 .....	27
Tabelle 8: TS/oTS-Bestimmung des Gärguts in den zwei Fermentern und Lager Silo der WIGAKO AG mittels Brutschranks und Muffelofen. Angaben Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) von einer Doppelbestimmung.....	28
Tabelle 9: Fettsäurenanteil in der Fettschlammkonzentration von 157.13 g/l .....	29
Tabelle 10: Übersicht Fettschlammengen für die Versuche 2 und 3.....	30
Tabelle 11: Beispiele nicht berücksichtigte Substanzen GC/MS-Datenauswertung.....	34
Tabelle 12: Bestimmung des TS/oTS der Substrate. Angaben MW und SD der 4-fach und 2-fach Bestimmung (Berechnungen im digitalen Anhang).....	36
Tabelle 13: Resultate der Gesamtfettbestimmung nach dem Gefriertrocknen der fettschlammhaltigen Mischungen der 42°C-Reihe. Die Angabe in % ist der Fettgehalt der untersuchten Probe in Bezug auf das Gesamtgewicht der extrahierten Probe. (Wert von 1-1-6 bei Tag 3 bedingt durch inhomogene Probennahme) .....	38
Tabelle 14: pH-Werte der 5 Mischungen bei Start und Ende des Versuchs. Bei «Inok x» 9» und «Inok x» 5.5» wurde der pH-Wert eingestellt und nach 2d kontrolliert und wieder angepasst. Inok y = Kronauer, Inok z = Rietliu.....	46
Tabelle 15: Resultate der Gesamtfettbestimmung nach dem Gefriertrocknen. Angaben in %, bezogen auf das Gesamtgewicht der extrahierten Probe. ....	46
Tabelle 16: TS-Bestimmung der fünf Mischungen im Gefriertrockner. Angaben MW und SD von einer Doppelbestimmung. (Berechnungen im digitalen Anhang).....	46

Tabelle 17: Vergleich AMPTS-Gasbildung Methan nach 473 h (20 d) Versuchsdauer. ....	47
Tabelle 18: Vergleich AMPTS-Gasbildung Methan nach 750 h (31 d) Versuchsdauer. ....	47
Tabelle 19: Biogaszusammensetzung der Ansätze 9 und 10e .....	51
Tabelle 20: Vergleich AMPTS-Gasbildung Methan nach 1000 h Versuchsdauer. ....	52

## Formelverzeichnis

Formel 1: $\beta$ -Oxidation Reaktion für LCFA (J. A. Lalman & Bagley, 2001).....	14
Formel 2: Hydraulische Verweilzeit ( $V_R$ = Reaktorvolumen [ $m^3$ ]; $V_{\cdot}$ = täglich zugeführtes Substratvolumen [ $m^3/d$ ]) (FNR, 2016).....	21
Formel 3: Raumbelastung $BR$ ( $m$ = zugeführte Substratmenge je Zeiteinheit [ $kg/d$ ]; $c$ = Konzentration der organischen Substanz [% oTS]; $V_R$ = Reaktorvolumen [ $m^3$ ]) (FNR, 2016)	21
Formel 4: Probenmengenkonzentration zur Verminderung von Hemmungen in einem Gäransatz (VDI, 2006) .....	21
Formel 5: Jahresdurchschnittliche Fettschlammkonzentration .....	29

**Anhangs-Verzeichnis**

A	Aufgabenstellung .....	LXXIII
B	Zusammenfassung von verschiedenen Co-Vergärungen mit FOG und LCFA Hemmungskonzentrationen (Long et al., 2012).....	LXXVII
C	Berechnungstabelle Fettschlamm Konzentration .....	LXXIX
D	GC/MS: Verdünnung der Extraktionen und Umrechnung .....	LXXX
E	GC/MS: Zusammenfassung der Substanzen in der Datenauswertung.....	LXXXI
F	Messresultate Versuch 1.....	LXXXIII
G	GC/MS Diagramme Restgaspotential der bestehenden Anlagenkonfiguration.....	LXXXIV
H	Selbstständigkeitserklärung .....	LXXXV



## A Aufgabenstellung

Zürcher Hochschule  
für Angewandte Wissenschaften



**Life Sciences und  
Facility Management**

Institut für Umwelt und  
Natürliche Ressourcen

Bachelor-Arbeit		
<b>Studienjahrgang</b>	SBUI16	
<b>Titel</b>	<b>Laborversuche zur Identifikation einer optimalen Substratmischung zur vorgeschalteten, anaeroben Hydrolyse im Biogasprozess</b>	
<b>Vertraulich</b>	ja <input type="checkbox"/> X nein <input checked="" type="checkbox"/>	
<b>Fachgebiet</b>	Erneuerbare Energien	
<b>Namen</b>	StudentIn	Florian Sutter Neudorfstrasse 48 8820 Wädenswil Tel: 079 513 74 25 E-Mail: sutteflo@students.zhaw.ch
	1. KorrektorIn	Florian Rüsch ZHAW LSFM Fachstelle Umweltbiotechnologie Einsiedlerstrasse 29 8840 Wädenswil Tel: 058 934 56 62 E-Mail: ruec@zhaw.ch
	2. KorrektorIn	Alexander Treichler ZHAW LSFM Fachstelle Umweltbiotechnologie Einsiedlerstrasse 29 8840 Wädenswil Tel: 058 934 56 27 E-Mail: trec@zhaw.ch
	3. KorrektorIn	

<b>Aufgabenstellung</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Ausgangslage</b></li> <li>• <b>Zielsetzungen</b></li> <li>• <b>Zusätzliche Auftragsmodalitäten</b></li> </ul>	<b>Ausgangslage</b> <p>Die Gebrüder Urs und Klaus Wittwer betreiben unter der Firma Wigako in Süderen (BE) eine landwirtschaftliche Biogasanlage mit vielen verschiedene gewerblich-industriellen Co-Substraten. Durch die Vielzahl an verschiedenen Substraten sind die Abbaubedingungen und die Verweilzeit in der Vergärung nicht optimal einstellbar. Je nach Substratmix, mit der die Biogasanlage beschickt wird, schwankt die Biogasausbeute dadurch stark.</p> <p>In einem aktuellen Umbau der Biogasanlage wird unter anderem der Vormischbehälter und die Hygienisierungsstufe erneuert und zwei vorgeschaltete anaerobe Hydrolysenfermenter in die Anlage integriert. Das erlaubt die Hydrolyse unabhängig von den beiden Hauptfermentern zu betreiben und die Betriebsparameter flexibler wählen zu können. Ziel der separaten Hydrolyse ist es einerseits ein stabilerer Betrieb der Anlage zu erreichen, um grosse Schwankungen in der Biogasausbeute zu verhindern und andererseits die Anlage effizienter zu betreiben und dadurch die substratspezifische Biogasausbeute zu erhöhen.</p> <p>Das Institut für Chemie &amp; Biotechnologie ICBT der ZHAW Wädenswil begleitet den Umbau der Biogasanlage der Wigako AG mit dem Projekt HYKOM. Das Projekt wird durch das Bundesamt für Energie BFE finanziell unterstützt und demonstriert im technischen Massstab vor Ort die energetisch und mikrobiologisch optimierte Kombination einer Hygienisierung mit einer zweistufigen Vergärung. Diese Bachelorarbeit wird im Rahmen des Projekts HYKOM realisiert und soll zu den Zielen «Optimieren von Betriebsparametern» und «Erhöhung der Biogasausbeute» der Projektofferte an das BFE eine Vorarbeit liefern.</p> <p>Als variable Betriebsparameter für die vorgeschaltete anaerobe Hydrolysestufe stehen beispielsweise Temperatur, pH-Wert, Verweilzeit, organische Raumbelastung und Trockensubstanzgehalt zur Verfügung. In dieser Bachelorarbeit können jedoch bei weitem nicht alle genannten Betriebsparameter auf sämtliche auf der Anlage eingesetzten Substrate bzw. möglichen Substratmischungen untersucht werden.</p> <p>Deshalb erfolgt eine Fokussierung auf das Substrat «Nutriswiss Fettschlamm», dessen relativen Anteil am totalen Methanertrag gemäss Massenbilanz des HYKOM-Projekts über 50% ausmacht und auf die Variablen pH-Wert und Temperatur. Die Substrate Schweinegülle, Kartoffelpülpe und Kaffeesatz werden als Co-Substrate ebenfalls untersucht.</p> <p>Der Fokus der Arbeit richtet sich dabei nicht ausschliesslich auf die Hydrolyse des Fettschlammes, sondern auch auf seinen Einfluss auf den ganzen Biogasprozess.</p> <p><u>Forschungsfragen</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ist es möglich, den gesamten im Fettschlamm enthaltenen Fettanteil abzubauen?</li> <li>- Gibt es Co-Substrate (Proteine, Kohlenhydrate), welche den Fettabbau (Lipide) des Nutriswiss-Fettschlammes hemmen oder fördern?</li> </ul>
---	---

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hat die Temperatur und der pH-Wert einen Einfluss auf den anaeroben Abbau der Lipide?</li> <li>- Hat eine zu hohe Konzentration von Lipiden und/oder Fettsäuren eine hemmende Wirkung auf den anaeroben Abbau?</li> <li>- Welchen Einfluss hat eine veränderte Mikrobiologie auf den Abbau von Lipiden/Fettsäuren?</li> </ul> <p><u>Zielsetzungen</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Identifikation mit welchen Co-Substraten (Kohlenhydrate, Proteine) der Fettschlamm vorteilhaft hygienisiert werden kann.</li> <li>- Vorschlag mit welcher Temperatur und pH-Wert die Hygienisierung der Wigako AG für eine optimale Verwertung des Fettschlammes gefahren werden kann.</li> <li>- Identifikation welchen Einfluss die Konzentration des Fettschlammes auf die anaerobe Vergärung der Wigako AG hat und falls möglich, in welcher Grössenordnung sie liegen sollte.</li> </ul> <p><b>Zusätzliche Auftragsmodalitäten</b></p> <p><u>Erwartet Resultate</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Bachelorarbeit, gemäss Weisungen ZHAW</li> <li>- Präsentation</li> <li>- Executive Summary (Formatierung wie Jahresbericht an BFE vom Projekt HYKOM)</li> </ul> <p><u>Provisorisches Inhaltsverzeichnis</u></p> <p>Zusammenfassung</p> <p>Abstract</p> <p>Inhaltsverzeichnis</p> <p>Liste der Abkürzungen</p> <p>1 Einleitung und Fragestellung</p> <p>2 Literaturübersicht</p> <p>2.1 Literaturmethode</p> <p>2.2 Betriebsparameter Temperatur und pH-Wert</p> <p>2.3 Anaerobischer Fettabbau</p> <p>2.4 Co-Substrate</p> <p>3 Material und Methode der Laborversuche</p> <p>4 Resultate</p> <p>5 Diskussion</p> <p>6 Schlussfolgerungen &amp; Ausblick</p> <p>7 Literaturverzeichnis</p> <p>Abbildungsverzeichnis</p> <p>Tabellenverzeichnis</p> <p>Formelverzeichnis</p> <p>Anhang</p>
<b>Formale Anforderungen</b>	Alle relevanten <a href="#">Merkblätter</a> zu studentischen Arbeiten
<b>Zeitplan</b>	<i>Siehe Anhang</i>

<b>Abgabetermin</b> (12.00 Uhr)	<i>Donnerstag 09.01.2020, 12:00 Uhr</i>
<b>Bemerkungen</b>	<b>Abgabeform:</b> Arbeit: in elektronischer Form und in Papierform (1-fach) Executive Summary: in elektronischer Form
<b>Arbeitsort</b>	- Labor Fachstelle Umweltbiotechnologie, ZHAW Wädenswil (Laboreinweisung erforderlich) - Wigako AG, Vorder Schallenberg, Süderen

Plagiate verstossen gegen die Urheberrechte, eine Verletzung dieser Rechte wird gemäss der Studien- und Prüfungsordnung für die Bachelorstudiengänge der Hochschule Wädenswil vom 01.09.2006 in § 38, 39 geregelt. Diese Studien- und Prüfungsordnung gilt für alle Bachelorstudienjahrgänge bis und mit Studienstart 2009.

Für Bachelorstudienjahrgänge mit Studienbeginn ab 2010 und die Masterstudiengänge mit Studienbeginn ab 2009 gilt § 39 der Rahmenprüfungsordnung für Bachelor- und Masterstudiengänge an der Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften vom 29.01.2008.

			Juli				August				September				Oktober				November				Dezember				Januar					
			27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	1	2	3	4
Phase	Tätigkeit	Termin																														
1	Aufgabenstellung																															
1.1	Abgabe Aufgabenstellung	01.08.					✖																									
1.2	Überarbeitung Aufgabenstellung																															
2	Literaturrecherche																															
2.1	Recherche/Durchsicht Quellen																															
2.2	Erarbeitung variable Betriebsparameter																															
2.3	Erarbeitung Abbauprodukte																															
3	Feldarbeit																															
3.1	Substratproben Wigako																															
4	Laborarbeit																															
4.1	Labormethoden																															
4.2	Laboreinführung																															
4.3	Laborarbeiten																							✖								
4.4	Laborauswertungen / Resultate																															
5	Arbeit Verfassen																															
5.1	Resultate																															
5.2	Diskussion																															
5.3	Schlussfolgerungen																															
5.4	Quellen/Zitate																															
5.5	Korrekturen / Gegenlesen																															
5.6	Poster gestalten																															
5.7	Überarbeitung																															
6	Abgaben																															
6.1	Abgabe Endfassung	09.01.																														
6.2	mündliche Prüfung	21/22.01																														
7	Abwesenheiten / Termine																															
7.1	Abwesenheit Florian Rüsch																															
7.2	Abwesenheit Alexander Treichel																															
7.3	Abwesenheit Florian Sutter																															
7.4	Besprechungen																															

✖ Meilensteine

## B Zusammenfassung von verschiedenen Co-Vergärungen mit FOG und LCFA Hemmungskonzentrationen (Long et al., 2012)

**Table 2 – LCFA methanogenic activity inhibition concentration.**

References	Experimental setup	Loading	Effect
Koster and Cramer (1987)	Batch tests conducted on sludge from UASB reactor	10 mM Caprylic acid (C8:0)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Koster and Cramer (1987)	–	5.9 mM Capric acid (C10:0)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Koster and Cramer (1987)	–	4.3 mM Lauric acid (C12:0)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Koster and Cramer (1987)	–	4.8 mM Myristic acid (C14:0)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Koster and Cramer (1987)	–	4.35 mM Oleic acid (C18:1)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Angelidaki et al. (1992)	Batch tests on sludge from cow manure digester	0.2 g/L oleate (C18:1)	Increase lag phase of methane production
Angelidaki et al. (1992)	–	0.5 g/L oleate (C18:1)	No growth
Angelidaki et al. (1992)	–	0.5 g/L stearate (C18:0)	Increase lag phase of methane production
Angelidaki et al. (1992)	–	1.0 g/L stearate (C18:0)	No growth
Rinzema et al. (1994)	Stirred batch reactors inoculated with biomass	6.7 mM capric acid	Acetogenic and methanogenic population is killed
Hwu and Lettinga (1997)	Batch test on 4 different sludges from UASB and USSB reactors	0.35–1.75 mM oleate (55 °C)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Hwu and Lettinga (1997)	–	0.53–2.27 mM oleate (40 °C)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Hwu and Lettinga (1997)	–	2.35–4.30 mM oleate (30 °C)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Alves et al. (2001b)	Fixed bed reactor	80 (not acclimated to oleic acid) – 137 (acclimated to oleic acid) mg/L oleic Acid	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Pereira et al. (2003)	Fixed bed reactor	2000 mg COD/g VSS oleic acid based synthetic waste	Upper limit of anaerobic sludge capacity (methanogenic activity stopped above this concentration)
Shin et al. (2003)	Batch tests with acclimated granular sludges	2700–2850 mg COD/L (oleate)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss
Shin et al. (2003)	–	3530–3610 mg COD/L (oleate)	50% Methanogenic activity loss (propionate degradation) <sup>a</sup>
Shin et al. (2003)	–	550–620 mg COD/L (linoleate)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss (acetate degradation) <sup>a</sup>
Shin et al. (2003)	–	760–1050 mg COD/L (linoleate)	50% Methanogenic activity loss (propionate degradation)
Shin et al. (2003)	–	3890–4400 mg COD/L (palmitate)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss (acetate degradation) <sup>a</sup>
Shin et al. (2003)	–	4310–4410 mg COD/L (palmitate)	50% Methanogenic activity loss (propionate degradation)
Shin et al. (2003)	–	3800–4480 mg COD/L (stearate)	50% Acetoclastic methanogenic activity loss (acetate degradation) <sup>a</sup>
Shin et al. (2003)	–	4400–4410 mg COD/L (stearate)	50% Methanogenic activity loss (propionate degradation)

<sup>a</sup> Shin et al. (2003) performed methanogenic inhibition tests with acetate or propionate as the main substrate.



**Table 4 – Description of FOG co-digestion experiments.**

References	Source of sludge	Source of FOG	Initial biogas production	Maximum biogas production	% Increase <sup>a</sup>	FOG feed concentration at max gas production	Reactor configuration	Temp. <sup>b</sup>	SRT
Kabouris et al. (2009a)	Primary and thickened waste activated sludge from municipal wastewater treatment plant. Pinellas county, FL	Polymer dewatered FOG from grease haulers. Sat. fat: (37.9%) C16:0 > C18:0 > C20:0 Unsat. fat: (62.1%) C18:1 > C20:1 > C18:2 > C16:1	159 (mL CH <sub>4</sub> /g VS added)	473 (mL CH <sub>4</sub> /g VS added)	197	48% VS	Two phase CSTR 1L – acid phase 4L – Methane phase	M	Acid phase – 1 day Methane phase – 12 day
Kabouris et al. (2009a)	Primary and thickened waste activated sludge from municipal wastewater treatment plant. Pinellas county, FL	Polymer dewatered FOG from grease haulers. Sat. fat: (37.9%) C16:0 > C18:0 > C20:0 Unsat. fat: (62.1%) C18:1 > C20:1 > C18:2 > C16:1	197 (mL CH <sub>4</sub> /g VS added)	551 (mL CH <sub>4</sub> /g VS added)	179	48% VS	Two phase CSTR 1L – acid phase 4L – methane phase	T	Acid phase – 1 day Methane phase – 12 days
Parry et al. (2009)	Co-thickened sludge from a municipal wastewater treatment plant in Renton, WA	Restaurant grease	267 (mL Biogas/g COD added)	302 (mL Biogas/g COD added)	13	33% VS	CSTR – 5 gallons	M	25 Days
Suto et al. (2006)	60% thickened waste activated sludge, 40% primary sludge from municipal WWTP in Oakland, CA	FOG from 27 different samples (see Table 2 for fatty acid profile)	900 mL/h	1740 mL/h	93	35% VS	CSTR 30 L – semi continuous feeding	M	20 Days
Suto et al. (2006)	60% thickened waste activated sludge, 40% primary sludge from municipal WWTP in Oakland, CA	FOG from 27 different samples (See Table 2 for fatty acid profile)	870 mL/h	1800 mL/h	106.9	50% VS	CSTR 30 L – semi continuous feeding	T	20 Days
Davidsson et al. (2008)	50% waste activated sludge, 50% primary sludge from WWTP in Malmö, Sweden	Grease trap sludge	325 mL CH <sub>4</sub> /g VS added	681 mL CH <sub>4</sub> /g VS added	109	60% VS	Batch methane potential reactor	M	nr

**– Table 4 (Continued)**

References	Source of sludge	Source of FOG	Initial biogas production	Maximum biogas production	% Increase <sup>a</sup>	FOG feed concentration at max gas production	Reactor configuration	Temp. <sup>b</sup>	SRT
Davidsson et al. (2008)	50% waste activated sludge, 50% primary sludge from WWTP in Malmö, Sweden	Grease trap sludge	271 mL CH <sub>4</sub> /g VS added	344 mL CH <sub>4</sub> /g VS added	27	30% VS	CSTR – batch fed once per day	M	10–13 Days
Kabouris et al. (2008)	Primary and thickened secondary sludge from WWTP in Pinellas county, FL	Dewatered FOG sample	151 mL CH <sub>4</sub> /g VS added	415 mL CH <sub>4</sub> /g VS added	175	41% VS	Batch biodegradability tests	M	nr
Kabouris et al. (2008)	Primary and thickened secondary sludge from WWTP in Pinellas county, FL. Used sludge from run 1 as inoculum	Dewatered FOG sample	143 mL CH <sub>4</sub> /g VS added	339 mL CH <sub>4</sub> /g VS added	137	33% VS	Batch biodegradability test (used sludge from run 1 as inoculum)	M	nr
Luostarinen et al. (2009)	Sewage sludge from a WWTP in Mikkeli, Finland	Grease trap sludge from a meat processing plant	278 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /VS added	463 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /VS added	66	46% VS	CSTR – 5 L Fed once per day	M	16 Days

nr, not reported.

<sup>a</sup> % increase = (biogas production in control reactor/biogas production with FOG) – 100%.<sup>b</sup> M, mesophilic (~35 °C); T, thermophilic (~55 °C).

## C Berechnungstabelle Fettschlamm Konzentration

	Wigako tot.	Fettschlamm							
t FM/a	5'436.18	975							
% TS-Gehalt/FM		63.000%							
t TS/a	1'014.8	614.3							
% oTS-Gehalt/TS		98.800%							
t oTS/a	885.3	606.9							
% Glycerinanteil		10.000%							
t/a "Fettsäuren"		546.2							
m3/a	6'204.9	Volumen Total Substrate gemäss Massenbilanz							
L	6'204'880.0								
g "Fettsäuren"/L		88.0	"Fettsäuren" im Fermenter						
Rückrechnung	real	Neu							
	88.0	5.0	g "Fettsäuren"/ L				neu gewählter Wert!		
	546.2	31.0	t "Fettsäuren"/ a						
	606.9	34.5	t oTS/a						
	614.3	34.9	t TS/a						
	975.0	55.4	t FM/a						
Fettschlamm									
Verhältniss neu g FM/L	8.93								
Verhältniss real g FM/L	157.13								
			Fettschlamm		Fettschlamm		Fettsäuren synthetisch		
							Fettschlamm aufgeschl.		
	Verhältniss real 450 g		Verhältniss neu 450 g		Verhältniss neu 600 g		Verhältniss neu 450 g		
	Inok	Fettschl.	Inok	Fettschl.	Inok	Fettschl.	Inok	Fettschl.	
5 g/L	379.3	70.71	445.98	4.02	594.64	5.36	447.75	2.25	
faktor 0.5	414.6	35.36	447.99	2.01	597.32	2.68	448.88	1.13	
faktor 2	343.9	106.07	441.97	8.03	589.29	10.71	445.50	4.50	
Pro Flasche [g]	450								
Pro Flasche [g]	600								

## D GC/MS: Verdünnung der Extraktionen und Umrechnung

Reihe a, Tag 1	Substrat [g]	Extrakt [ $\mu$ l]	Ethylacetat [ $\mu$ l]	Umrechnung auf 1g
1-1-1, 1-2-1	1.0	300	600	$=x/(1/3)$
1-1-2, 1-2-2	1.0	300	600	$=x/(1/3)$
1-1-3, 1-2-3	1.0	300	600	$=x/(1/3)$
1-1-4, 1-2-4	1.0	300	600	$=x/(1/3)$
1-1-5, 1-2-5	1.0	300	600	$=x/(1/3)$
1-1-6, 1-2-6	1.0	300	600	$=x/(1/3)$
Reihe b, Tag 2	Substrat [g]	Extrakt [ $\mu$ l]	Ethylacetat [ $\mu$ l]	Umrechnung auf 1g
1-1-1, 1-2-1	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
1-1-2, 1-2-2	1.0	-	-	uverändert
1-1-3, 1-2-3	1.0	-	-	uverändert
1-1-4, 1-2-4	1.0	-	-	uverändert
1-1-5, 1-2-5	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
1-1-6, 1-2-6	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
Reihe c, Tag 3	Substrat [g]	Extrakt [ $\mu$ l]	Ethylacetat [ $\mu$ l]	Umrechnung auf 1g
1-1-1, 1-2-1	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
1-1-2, 1-2-2	1.0	-	-	uverändert
1-1-3, 1-2-3	1.0	-	-	uverändert
1-1-4, 1-2-4	1.0	-	-	uverändert
1-1-5, 1-2-5	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
1-1-6, 1-2-6	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
Reihe d, Tag 4	Substrat [g]	Extrakt [ $\mu$ l]	Ethylacetat [ $\mu$ l]	Umrechnung auf 1g
1-1-1, 1-2-1	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
1-1-2, 1-2-2	1.0	-	-	uverändert
1-1-3, 1-2-3	1.0	-	-	uverändert
1-1-4, 1-2-4	1.0	-	-	uverändert
1-1-5, 1-2-5	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
1-1-6, 1-2-6	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
Reihe e, Tag 22	Substrat [g]	Extrakt [ $\mu$ l]	Ethylacetat [ $\mu$ l]	Umrechnung auf 1g
1-1-1, 1-2-1	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
1-1-2, 1-2-2	1.0	-	-	uverändert
1-1-3, 1-2-3	1.0	-	-	uverändert
1-1-4, 1-2-4	1.0	-	-	uverändert
1-1-5, 1-2-5	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$
1-1-6, 1-2-6	0.3	100	900	$=x/0.3/0.1$



## E GC/MS: Zusammenfassung der Substanzen in der Datenauswertung

### Beispiel 1:

1-1-1a_1	1-1	1	a	1	16.2153	C13H26O2	Dodecanoic acid, methyl ester	95.1	275071
1-1-1a_1	1-1	1	a	1	16.7378	C12H24O2	Dodecanoic acid	98.7	14975454
1-1-1a_1	1-1	1	a	1	18.5375	C15H30O2	Methyl tetradecanoate	88.2	68423
1-1-1a_1	1-1	1	a	1	18.9391	C14H28O2	Tetradecanoic acid	98.8	5047973
1-1-1a_1	1-1	1	a	1	20.6371	C16H34O2	Hexadecanoic acid, methyl ester	88.8	156197
1-1-1a_1	1-1	1	a	1	20.9972	C16H24O2	Hexadecanoic acid	92.9	4698659

Es zeigte sich, dass die *methyl ester*-Form einer Säure jeweils eine leicht kürzere RT als die Säure selbst aufweist. Das *methyl ester* könnte aus der Reaktion mit dem Lösungsmittel *Ethylacetat* entstanden sein und weist noch die gleiche Grundkette auf wie reine Säure. Die Säure wird deshalb jeweils mit dem Säure *methyl ester* zusammengefasst.

### Beispiel 2:

1-2-6a_2	1-2	6	a	2	16.2183	C13H26O2	Dodecanoic acid, methyl ester	93.9	182648	547'944	65732	17.10.2019 01:17
1-2-6a_2	1-2	6	a	2	16.7276	C12H24O2	Dodecanoic acid	98.7	11036336	33'109'008	1745506	17.10.2019 01:17
1-2-6a_2	1-2	6	a	2	17.0546	C14H28O2	Dodecanoic acid, ethyl ester	83.1	59950	179'850	20707	17.10.2019 01:17

Ähnliche Situation wie im Beispiel 1. Der zusätzliche *Dodecanoic acid, ethyl ester* wird ebenfalls mit der *Dodecanoic acid* zusammengefasst.

### Beispiel 3:

1-1-3c_2	1-1	3	c	2	20.9698	C15H30O2	Pentadecanoic acid
1-1-3c_1	1-1	3	c	1	20.9702	C16H32O2	n-Hexadecanoic acid

Die RT Zeiten vom *Pentadecanoic acid* und *n-Hexadecanoic acid* sind so nahe beisammen, dass es die gleiche Substanz sein muss. Zudem ist die RT von 20.95 typisch für C16 Substanzen. *n-Hexadecanoic acid* wird in *Pentadecanoic acid* umbenannt.

### Beispiel 4:

1-1-1a_1	1-1	1	a	1	22.7179	C18H34O2	trans-13-Octadecenoic acid	94.4	18084236	54'252'708	1168603	15.10.2019 16:41
1-1-1a_2	1-1	1	a	2	22.7186	C18H34O2	trans-13-Octadecenoic acid	94.5	17861297	53'583'891	1500028	16.10.2019 04:21
1-1-1a_3	1-1	1	a	3	22.7279	C18H34O2	trans-13-Octadecenoic acid	94.4	31572427	94'717'281	5297545	16.10.2019 18:02
1-1-1a_1	1-1	1	a	1	22.8791	C18H34O2	Oleic Acid	86.2	2189749	6'569'247	373810	15.10.2019 16:41
1-1-1a_2	1-1	1	a	2	22.8796	C18H34O2	Oleic Acid	87.4	2286621	6'859'863	411973	16.10.2019 04:21
1-1-1a_3	1-1	1	a	3	22.886	C18H24O3	Oxacyclotetradecane-2,11-dione, 13-methyl-	90	3016643	9'049'929	945111	16.10.2019 18:02

Die Substanz *Oxacyclotetradecane-2,11-dione, 13-methyl-* hat sehr ähnliche RT wie die *Oleic Acid* bei der Einspritzung 1 und 2. Zudem ist das Muster zwischen den drei verschiedenen Einspritzungen gleich und die *trans-13-Octadecenoic acid* hat bei der Einspritzung 3 ebenfalls eine leicht spätere RT im Gegensatz zur Einspritzung 1 und 2. *Oxacyclotetradecane-2,11-dione, 13-methyl-* wird in diesem Beispiel als *Oleic Acid* betrachtet.

### Beispiel 5:

210	1-2-3a_2	1-2	3	a	2	22.6602	C18H34O2	Oleic Acid	83.1	296384	889'152	889'152
211	1-2-3a_2	1-2	3	a	2	22.8601	C18H36O2	Octadecanoic acid	72.5	34998	104'994	104'994

In solchen Situationen, in der zwei verschiedene C18 Säuren in der gleichen Einspritzung vorkommen, werden die Mittelwerte mit den anderen Einspritzungen von den beiden Säuren (*Oleic acid* & *Octadecanoic acid*) separat berechnet, da sie unterschiedliche Peaks im Chromatogramm aufweisen. Die beiden Säuren werden erst danach zu den C18 Säuren zusammengefasst.

### Beispiel 6:

1	1-2-3d_2	1-2	3	d	2	20.9647	C16H32O2	n-Hexadecanoic acid	5
2	1-2-3d_2	1-2	3	d	2	20.9647	C16H26O2	Tridecanoic acid	6

Die beiden Substanzen wurden bei genau gleicher RT und bei der gleichen Einspritzung angezeigt. Es wird geschaut, wie die Peaks übereinander liegen und welcher die grössere Fläche aufweist. In diesem Beispiel hat *Tridecanoic acid* die grössere Fläche, jedoch ist die RT typisch für *Hexadecanoic acid*. Es wird die Fläche vom *Tridecanoic acid* verwendet und der Namen zu *n-Hexadecanoic acid* unbenannt.

## F Messresultate Versuch 1

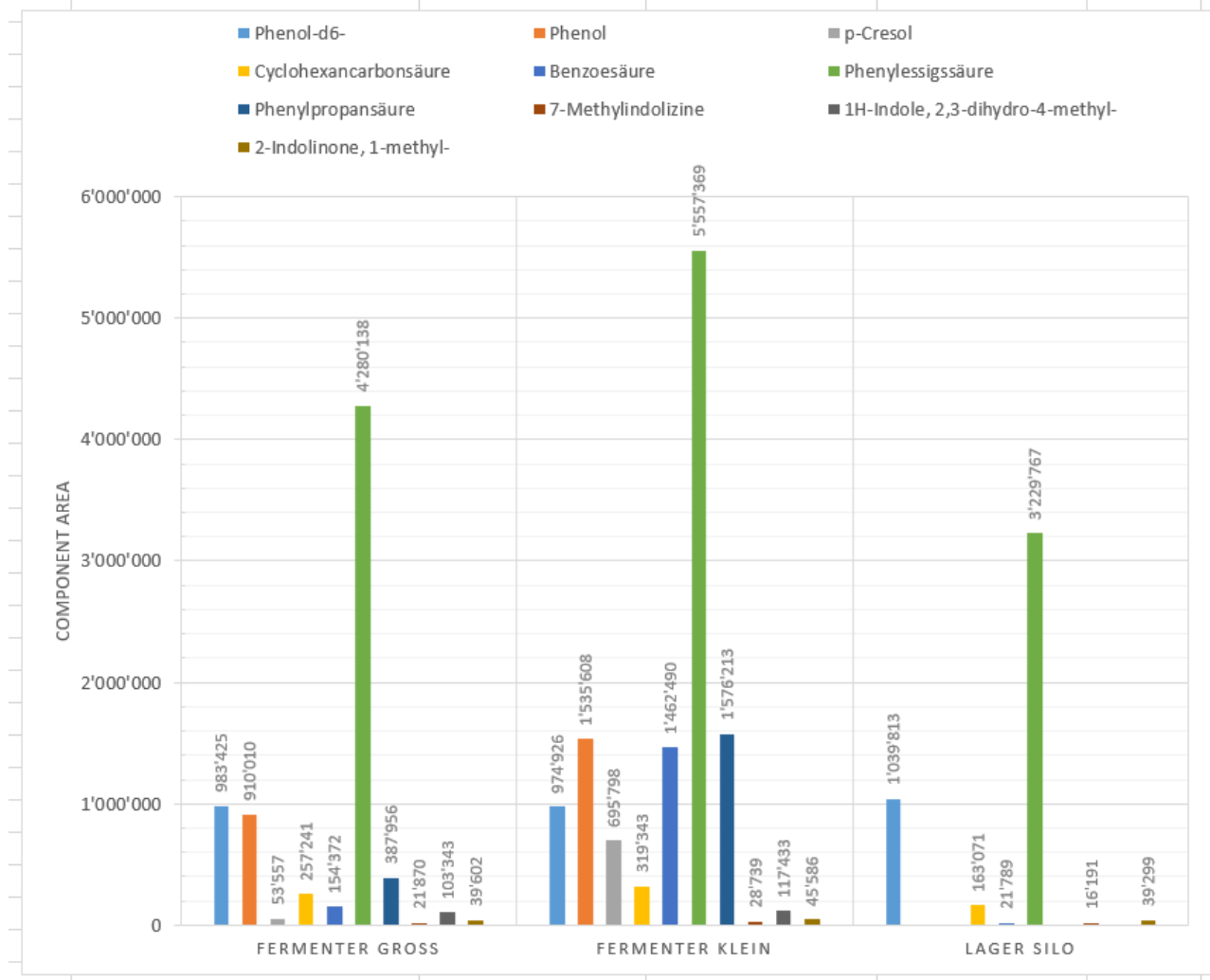
detaillierte Berechnung der TS im digitalen Anhang.

pH-Werte Versuch 1						
	Tag 0 (Reihe 0)	Tag 1 (Reihe a)	Tag 2 (Reihe b)	Tag 3 (Reihe c)	Tag 4 (Reihe d)	Tag 22 (Reihe e)
	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 22
1-1-1	6.4	6.6	4.9	4.4	4.4	4.5
1-1-2	6.5	6.2	5.2	4.9	4.8	4.9
1-1-3	4.7	4.5	3.9	3.6	3.4	3.6
1-1-4	7.9	8.1	8.2	8.2	8.2	8.2
1-1-5	4.9	5.0	4.5	4.2	4.1	4.0
1-1-6	6.5	6.7	5.7	4.7	4.7	4.8
1-2-1	6.4	6.6	6.3	6.1	5.8	5.9
1-2-2	6.5	6.1	5.5	5.2	5.1	4.8
1-2-3	4.7	4.6	4.3	3.9	3.8	4.0
1-2-4	7.9	8.2	8.5	8.3	8.4	8.4
1-2-5	4.9	5.1	4.7	4.5	4.3	4.5
1-2-6	6.5	6.8	6.9	6.7	6.7	6.4

TS-Werte Versuch 1						
	Tag 0 (Reihe 0)	Tag 1 (Reihe a)	Tag 2 (Reihe b)	Tag 3 (Reihe c)	Tag 4 (Reihe d)	Tag 22 (Reihe e)
	Tag 0	Tag 1	Tag 2	Tag 3	Tag 4	Tag 22
1-1-1	27.3	25.9	30.6	33.0	38.8	36.9
1-1-2	11.7	11.5	12.8	13.2	13.2	12.5
1-1-3	5.0	4.8	4.9	4.6	4.7	4.5
1-1-4	19.1	19.2	14.1	15.1	16.2	18.3
1-1-5	31.2	30.4	27.1	31.7	33.5	29.0
1-1-6	31.4	30.3	36.8	43.6	45.6	43.3
1-2-1	26.6	26.3	31.5	35.6	36.7	41.3
1-2-2	12.4	12.2	12.8	13.3	13.1	13.0
1-2-3	5.2	4.9	5.0	4.7	4.7	3.9
1-2-4	17.9	19.1	16.7	17.3	17.4	17.2
1-2-5	29.2	31.2	29.4	31.8	32.2	39.1
1-2-6	26.7	28.1	28.9	32.1	32.6	45.9

## G GC/MS Diagramme Restgaspotential der bestehenden Anlagenkonfiguration

	Fermenter Gross	Fermenter Klein	Lager Silo
Phenol-d6-	983'425	974'926	1'039'813
Phenol	910'010	1'535'608	
p-Cresol	53'557	695'798	
Cyclohexancarbonsäure	257'241	319'343	163'071
Benzoessäure	154'372	1'462'490	21'789
Phenylelessigssäure	4'280'138	5'557'369	3'229'767
Phenylpropansäure	387'956	1'576'213	
7-Methylindolizine	21'870	28'739	16'191
1H-Indole, 2,3-dihydro-4-methyl-	103'343	117'433	
2-Indolinone, 1-methyl-	39'602	45'586	39'299



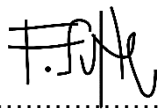
## **H      Selbstständigkeitserklärung**

Mit der Abgabe dieser Bachelorarbeit versichert der/die Studierende, dass er/sie die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst hat.

Der/die unterzeichnende Studierende erklärt, dass alle verwendeten Quellen (auch Internetseiten) im Text oder Anhang korrekt ausgewiesen sind, d.h. dass die Bachelorarbeit keine Plagiate enthält, also keine Teile, die teilweise oder vollständig aus einem fremden Text oder einer fremden Arbeit unter Vorgabe der eigenen Urheberschaft bzw. ohne Quellenangabe übernommen worden sind.

Bei Verfehlungen aller Art treten Paragraph 39 und Paragraph 40 der Rahmenprüfungsordnung für die Bachelor- und Masterstudiengänge an der Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften vom 29. Januar 2008 sowie die Bestimmungen der Disziplinar massnahmen der Hochschulordnung in Kraft.

Ort, Datum: Wädenswil, 09.01.2020

Unterschrift:  .....